

Tome 67 Fascicule 3 (Nos 26-30) Septembre 1960

REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

ANNALES

DE LA

SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

ET DU

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

MAURICE BEDOT
fondateur

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

EMILE DOTTRENS
Directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève

AVEC LA COLLABORATION DE

HERMANN GISIN
Conservateur des arthropodes

et

EUGÈNE BINDER
Conservateur des invertébrés

GENÈVE
IMPRIMERIE ALBERT KUNDIG
1960

REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

Tome 67. En cours de publication.

(Voir suite page 3 de la couverture)

REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE 309
Tome 67, nº 26 — Septembre 1960

Sur la faune européenne des Collemboles III

par

Hermann GISIN

Muséum d'Histoire naturelle de Genève

Avec 14 figures dans le texte.

Les notes suivantes comprennent, d'une part, les descriptions de quatre espèces inédites, que j'ai rencontrées dans du matériel identifié pour des correspondants et que ceux-ci m'ont prié de publier afin qu'ils puissent en tenir compte dans leurs travaux écologiques, et, d'autre part, diverses contributions à des problèmes d'actualité en taxonomie et aussi en écologie des Collemboles.

Redescription de *Hypogastrura (Ceratophysella) attenuata* Cassagnau, (fig. 1)

J'ai eu l'avantage de pouvoir comparer cinq spécimens provenant des Alpes centrales avec des paratypes, dont M. P. Cassagnau a eu l'obligeance de me prêter une préparation. Ces paratypes, qui ont fait l'objet d'une très brève diagnose récente (Cassagnau, *Vie et Milieu* 9, 1959: 496), proviennent du Cirque de l'Estaranhe (Hautes-Pyrénées), d'une altitude approximativement égale à celle du Fikenloch en Suisse, d'où viennent mes exemplaires. Les paratypes examinés mesurent jusqu'à 1,3 mm et sont manifestement un peu jeunes, mais concordent par ailleurs parfaitement avec le matériel suisse.

Description. — Taille: 1,6-2,2 mm. Corps couvert de mouchetures bleu noirâtre. Granulation cutanée uniformément fine; c'est à peine qu'on remarque sur le dos de l'abd. V une granulation légèrement plus grossière. Macrochètes dorsaux fortement différenciés. Microchètes dorsocentraux des tergites abdominaux

comme chez *H. armata* s.str. Mais dans la rangée postérieure de l'abd. IV, entre le macrochète médial et le suivant, il n'y a qu'un microchète, où *H. armata* en a typiquement deux. Tête sans poils spiniformes. Sac évaginable entre ant. III et IV jamais vu. Face ventrale de l'ant. IV avec une dizaine de fins sensilles crochus à l'apex et longs d'au moins un diamètre d'un ocelle (différence

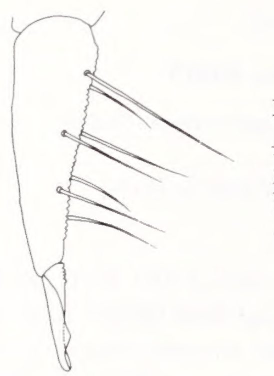


FIG. 1.
Hypogastrura attenuata.
Dens et mucron,
face externe.
Exemplaire
du Fikenloch.

avec *H. armata*). Vésicule apicale d'ant. IV en forme de bouton floral de tulipe, avec division incomplète en 3 lobes; un des lobes dépasse généralement les deux autres. Toutes les bosses du postantennal ovoïdes, droites, les deux antérieures plus allongées; bosse accessoire petite. Huit ocelles de chaque côté. Tibiotarse avec 1 ergot dorsal non capité. Griffes avec une dent interne distincte; le filament terminal de l'empodium dépasse nettement le niveau de cette dent pour atteindre $3/4$ de la longueur de la crête interne de la griffe (chez *H. armata* $1/2$ seulement). Tube ventral avec 4 + 4 poils. Tenaculum avec 4 + 4 dents. Dentes (fig. 1) avec 7 poils, les deux disto-internes pas sensiblement plus épais (différence avec *H. armata*). Mucro (fig. 1) très allongé, la lamelle dentiforme extérieure basse, mais typique; apex, en vue ventrale, relativement étroit, mais il n'est « franchement pointu » (CASSAGNAU) qu'orienté obliquement de façon à faire apparaître la carène antérieure. Epines anales très élancées, particulièrement grêles et incolores (à l'encontre de *H. armata*).

Station. — Fikenloch, Grotte de la région du Jochpass, canton d'Obwald (Suisse centrale), 2.450 m alt. 5 spécimens leg. MM. AELLEN, ROTH et STRINATI, 18-8-1959.

Sur le sous-genre *Ceratophysella* (fig. 2-3)

Börner a établi en 1932 le genre *Ceratophysella* sur les caractères suivants: ergots des tibiotarses non capités; bosses antérieures du postantennal étirées; pilosité du corps généralement longue; un sac exsertile entre ant. III et IV présent.

Mais on s'est vite aperçu qu'il y avait tous les intermédiaires entre ces caractères et ceux de *Hypogastrura* s.str., en sorte que Stach (1949: 123) conclut justement: « the separation of *Ceratophysella* as a good genus or subgenus... is unfounded in reality », sans toutefois mettre lui-même cette conclusion en pratique.

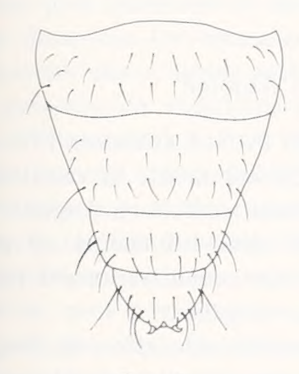


Fig. 2.

Hypogastrura purpurescens. Chétotaxie dorsale, abd. III-VI. Exemplaire d'une grotte de la Bourgogne.

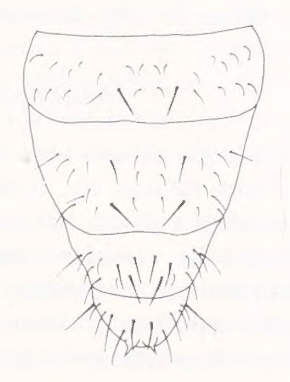


Fig. 3.

Hypogastrura viatica. Chétotaxie dorsale, abd. III-VI. Exemplaire de la côte allemande de la Mer du Nord.

Depuis 1944 (« Hilfstabellen »), j'ai tenté de « sauver » ce taxon, malgré tout assez utile, en le fondant sur la forme du mucron (lamelle externe avec lobe dentiforme). Maintenant, Cassagnau (1959) pense avoir trouvé des espèces intermédiaires pour ce caractère également *(C. elegans, recta)*. Mais, lui aussi, essaie de conserver *Ceratophysella* en retenant comme critère la présence de macrochètes différenciés.

Malheureusement, cette définition a aussi d'immenses faiblesses: 1° il y a tous les intermédiaires entre macrochètes fortement différenciés et macrochètes « mal individualisés » *(C. pyrenaica* Cassagnau). Chez *Ceratophysella cylindrica* Cassagnau, les macro-

chètes n'ont que 1,5 fois la longueur des microchètes. 2° La chétotaxie des *Hypogastrura* s.str. n'est pas fondamentalement différente de celle des *Ceratophysella*, et on reconnaît parfaitement les mêmes microchètes dorsocentraux (fig. 2); chez *Hypogastrura purpurescens*, par exemple, on retrouve à peu près le même rapport de longueur des poils que celui que je viens de mentionner pour *C. cylindrica*. 3° Ce qui est pire, c'est que *H. viatica*, qui est le type (en nomenclature) du genre *Hypogastrura*, a des macrochètes fortement différenciés (fig. 3). Ce caractère peut être polyphylétique.

Il s'ensuit qu'actuellement nous ne sommes pas en mesure de définir *Ceratophysella* d'une façon claire et naturelle, et aussi longtemps qu'il en est ainsi, il me paraîtrait hasardeux d'accorder à ce taxon le rang de genre.

Schaefferia emucronata Absolon

Dans une récente note polycopiée, M. P.-N. Lawrence (Trans. Cave Res. Groupe Gr. Brit. 5, 1959: 122) commente la variabilité de formes du groupe *Schaefferia emucronata* récoltés en Angleterre. Estimant les caractères distinctifs très variables, même au sein de populations naturelles, il est tenté de considérer ces formes comme appartenant à une seule espèce variable.

Ces observations contrastent avec une constatation de Stach (1949: 164), basée sur du matériel d'Europe centrale, selon laquelle tous les spécimens provenant d'une même grotte, et parfois aussi de grottes voisines, présentent constamment les mêmes caractères, et qu'on peut distinguer toute une série de formes, qui semblent représenter des races géographiques. Cette dernière conception est quelque peu battue en brèche par des trouvailles récentes faites par Cassagnau (1959) dans la région pyrénéenne; cet auteur rappelle que ces formes sont fréquemment sympatriques (il en a même trouvé deux dans la même grotte), mais il ne mentionne pas non plus l'existence d'une variabilité infrasubspécifique. J'avais moi-même identifié *Schaefferia emucronata* s.str. provenant de diverses grottes suisses et françaises, et je ne me rappelle pas avoir jamais eu la moindre hésitation dans l'appréciation des caractères de détermination. Je me suis mis néanmoins en devoir de revérifier l'échantillon le plus nombreux dont je dispose en ce moment (13 spécimens du Milchlöchli, Jura bernois). Le nombre

des yeux est chez tous 3 + 3, le mucron est toujours absent, le tenaculum a toujours 3 + 3 dents, et les dentes ont 4 + 4 poils à l'exception d'un seul spécimen où il y en a 3 + 4, ce qui est une aberration manifeste.

Si l'attribution à ces formes du statut d'espèces ou de sous-espèces est, en l'état actuel de nos connaissances, largement une affaire conventionnelle, l'existence de variations désordonnées, au moins dans une partie de l'aire géographique, poserait un problème beaucoup plus grave. Ces variations exigent dès lors une étude serrée. P. N. Lawrence ne prétend pas avoir déjà fourni cette étude, et j'ai le sentiment que des statistiques plus complètes, qu'il entreprendra peut-être encore, pourrait l'amener à des conclusions plus nuancées et moins bouleversantes. Car il semble bien que dans tous les exemples de variabilité qu'il cite, les populations accusent une « norme spécifique » bien définissable, en dépit de la présence de variations asymétriques (phénomène courant chez les Collemboles) et de variations symétriques ne dépassant le plus souvent qu'un faible pourcentage.

Cette notion de « norme spécifique » me semble revêtir une grande importance dans l'étude de formes voisines, nous permettant de mieux nous orienter sur la signification de variations, qui ne sont pas toujours aussi désordonnées qu'elles paraissent à première vue. Des élevages pourraient sans doute aussi nous donner d'utiles enseignements sur ce sujet.

Onychiurus islandicus n. sp. et remarques sur la systématique des *Onychiurus*

Bibliographie. — Bödvarsson, 1959, Opuscula ent. Lund 24: 235 *(O. armatus* f. *islandica).*

Diagnose. — Ps.oc.: 33/022/33333, face ventrale de la tête avec 1 ps.oc., subcoxes sans ps.oc. Chétotaxie du th.I: i3m. Abd. I-III et V avec des poils supplémentaires s'. Longueur relative des poils M/s de l'abd. V inconnue. Insertions des poils préspinaux de l'abd. VI déterminant 2 lignes convergentes. Griffes inermes ou avec une petite dent interne. Autrement avec les caractères généraux du groupe *armatus*.

Remarques. — Bödvarsson, dans son récent travail sur les *Onychiurus* d'Islande, appelle cette espèce « la forme non

décrite »; en réalité, il la décrit bel et bien, et il la nomme aussi; mais comme il lui refuse expressément une valeur autre qu'infra-subspécifique, le nom qu'il lui donne n'a, d'après les nouvelles règles de nomenclature, de statut équivalent aux noms avec lesquels il est à mettre en parallèle qu'à partir du moment où un auteur l'élève au rang d'espèce (ou de sous-espèce); c'est ce que j'entends faire ici.

Bödvarsson se plaît à s'opposer à ma conception de la taxonomie de ce groupe. Je ne sais trop pourquoi, car, pour l'essentiel, nous arrivons aux mêmes conclusions, à savoir: les *Onychiurus* du groupe *armatus* se répartissent en un assez grand nombre de formes, très voisines, mais suffisamment bien définissables pour qu'on puisse attribuer sans équivoque chaque population à une de ces formes.

Bödvarsson, s'obstinant à confondre écarts asymétriques et variation normale, croît avoir découvert des « formes de transitions », qui ne sont en réalité que des anomalies, dont j'ai maintes fois signalé la fréquence parfois troublante chez les *Onychiurus*. Elles n'ont en tout cas pas empêché Bödvarsson d'identifier à coup sûr chacun de ses 209 spécimens, autrement ses statistiques n'auraient aucun sens. Il reconnaît à chacune de ses « formes » une formule normale de pseudocelles (à part *macfadyeni*, particulièrement variable et dont les 9 spécimens ne permettent pas de statistiques concluantes) [1].

L'existence objective de ces formes mises en évidence par moi se trouve donc une fois de plus confirmée. C'est cela qui importe.

Reste la question de la spécificité. Les moyens de preuve sont naturellement limités en taxonomie morphologique quand on a affaire à un grand nombre de formes séparées par relativement peu de caractères. La conscience du taxonomiste est particulièrement mise à l'épreuve dans les cas extrêmes, mais rares, de formes ne présentant qu'un ou deux caractères distinctifs; en réalité le taxonomiste ne peut retenir ceux-ci que s'il les trouve en corrélation avec des caractères écologiques et physiologiques de populations homogènes rencontrées en différents endroits et dans des biotopes définies, autrement dit, quand ces formes lui appa-

[1] Il convient de noter que la forme appelée *vanderdrifti* Gisin, 1952, par Bödvarsson est en réalité *pseudovanderdrifti* Gisin, 1957.

raissent comme se comportant biologiquement comme de bonnes espèces quoique morphologiquement cryptiques.

Les arguments développés par Bödvarsson vers la fin de son travail, s'ils étaient valables, réduiraient à l'absurde l'ensemble de la taxonomie des Collemboles. Bödvarsson reproche aux caractères utilisés par moi d'être liés aux téguments. Qu'il me cite un seul caractère taxonomique de Collembole qui ne le soit pas!

Autant qu'on sache, les mâles sont un peu plus rares que les femelles chez tous les Collemboles. La parthénogenèse n'est démontrée jusqu'à présent que pour une seule espèce de Collembole, qui n'appartient pas au groupe de formes étudiées par Bödvarsson, et chez laquelle il n'y a pas de mâles du tout. D'accord sur l'intérêt que présenteraient des élevages de laboratoire réclamés par mon contradicteur suédois; il sera bientôt servi!

Onychiurus naglitschi n. sp. (fig. 4-7)

Justification. — La nouvelle espèce semble avoir une position systématique assez isolée. La petite lamelle empodiale (fig. 5), chez une forme à bosses postantennales composées et dépourvue d'épines anales, indiquerait une parenté avec *O. handschini*, *boneti* et d'autres espèces cavernicoles; mais la répartition des pseudocelles est différente. A la face dorsale, il y a le même nombre de ps. oc. que chez *O. silvarius*, mais ceux-ci sont autrement disposés sur l'abd. V (pas de ps. oc. entre les macrochètes dorsolatéraux de la rangée postérieure, fig. 6). La distribution des ps. oc. ventraux de l'abdomen se traduit par une formule encore inconnue (2122). D'autre part, l'espèce se distingue par sa petite taille, le postantennal court (fig. 4) et par la chétotaxie des sternites abdominaux (fig. 7).

Description. — Taille: 0,8-0,95 mm. Blanc. Corps cylindrique. Granulation cutanée assez uniformément fine; elle est un peu plus grossière aux environs des ps. oc. dorsomédiaux et particulièrement fine au bord postérieur de la tête. Les bases antennaires, en vue dorsale, ne sont pas individualisées par une granulation spéciale. Pseudocelles: face dorsale: 32/133/33353; face ventrale: 2/000/2122 (v. fig. 4, 6, 7). Un des ps. oc. ventraux de chaque côté de la tête est située très latéralement aux angles postérieurs. Subcoxes avec 1 ps. oc., situés au-dessus du macrochète. Bord

postérieur de la tête, entre les ps. oc. médiaux, de chaque côté avec deux poils, l'un plus long que l'autre. Th. I avec 6 + 6 poils. Poils sur abd. IV-V et aux sternites abd. II-III v. fig. 6-7. Tube ventral de chaque côté avec 4 poils marginaux et 2 autres en deuxième rangée; il n'y a pas de poils à la base du tube ventral.



Fig. 4.
Onychiurus naglitschi, n. sp. Premier article antennaire, pseudocelles d'une base antennaire et postantennal, de profil, côté gauche.



Fig. 5.
Onychiurus naglitschi, n. sp. Griffe III, face antérieure.

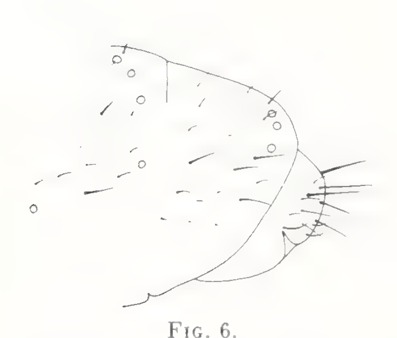


Fig. 6.
Onychiurus naglitschi, n. sp. Partie postérieure de l'abdomen avec les pseudocelles dorsaux, de profil



Fig. 7.
Onychiurus naglitschi, n. sp. Sternites abdominaux II et III, côté gauche, mâle.

Postantennal avec 8-10 bosses composées, distinctement séparées (fig. 4). Organe ant. III avec 5 papilles et 5 poils insérés directement aux bases de celles-ci; les deux sensilles lisses, inclinés. Griffe et empodium inermes (fig. 5). Pas trace de furca, ni d'épines anales. Mâles sans organe ventral spécial.

Station. — Friedrichshof (Mark, Allemagne orientale), champ de luzerne, 5 femelles, 1 mâle, leg. F. Naglitsch 1959. (L'holotype, mâle, est déposé au Muséum de Genève, de même

que quelques paratypes; d'autres paratypes dans la collection F. Naglitsch.)

Onychiurus sublegans n. sp. (fig. 8-11)

Justification. — A la face dorsale, la répartition des pseudocelles est comme chez *O. arans*, *insinuans* et *penetrans*; mais sur chacun des sternites abdominaux II-IV il n'y a qu'un ps. oc. de chaque côté, ce qui est une disposition rare chez les *Onychiurus*.

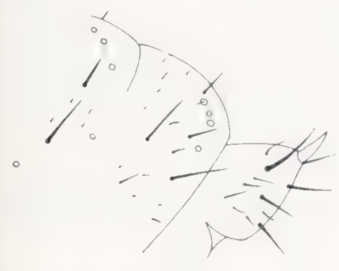


Fig. 8.

Onychiurus sublegans, n. sp. Partie postérieure de l'abdomen avec les pseudocelles dorsaux, de profil.

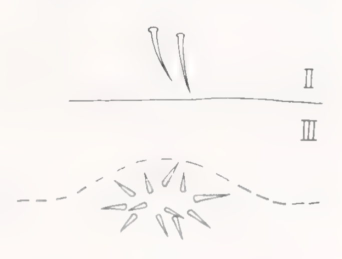


Fig. 9.

Onychiurus sublegans, n. sp. Organe ventral mâle sur les sternites abd. II et III. Holotype.

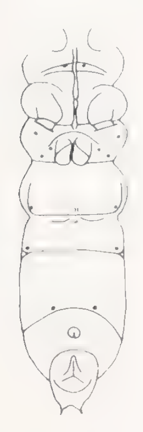
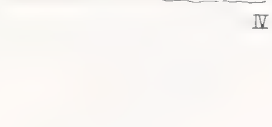


Fig. 10.

Onychiurus sublegans, n. sp. Face ventrale du thorax III à l'abdomen VI montrant la disposition des pseudocelles et de l'organe mâle. Holotype.



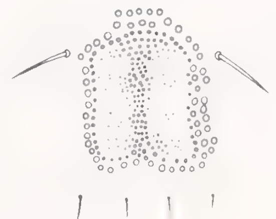


Fig. 11.

Onychiurus sublegans, n. sp. Emplacement de la furca, à fort grossissement, près de la limite entre les sternites abd. III et IV. Holotype.

et en tout cas inconnue parmi les espèces les plus voisines. L'organe ventral mâle est comme chez *O. circulans*.

Description. — Taille: 1,3-1,7 mm. Blanc. L'abd. VI est nettement plus développé que chez *O. circulans*, aussi bien vu de profil (fig. 8) qu'en vue dorsoventrale (fig. 10); c'est ce qui donne à la nouvelle espèce un habitus d'*O. armatus* plutôt que de *circulans*. Granulation cutanée relativement fine et presque uniforme; abd. VI pas plus grossièrement granulé que le segment précédent; bases antennaires et bord postérieur de la tête distinctement individualisés par une granulation plus fine. Pseudocelles: face dorsale: 32/133/33354 (v. fig. 8); face ventrale: 3/-11/3111; subcoxes: 2. Le ps. oc. médial de chaque côté du tube ventral est généralement moins net que les autres, apparemment il est en voie de régression. Comme anomalie asymétrique, il arrive fréquemment que l'un des deux groupes de 3 ps. oc. médiaux de l'abd. IV (fig. 8) soit accompagné d'un ps. oc. supplémentaire. Les longueurs des macrochètes de la rangée postérieure de l'abd. V sont approximativement (en partant de la médiane) de 8, 11 et 15 (épines anales = 10); le microchète mousse devant le ps. oc. médial mesure 3 unités de cette échelle (v. fig. 8). Organe ant. III avec 5 papilles accompagnées de 5 poils, 2 gros sensilles lisses et inclinés et les 2 bâtonnets centraux habituels. Postantennal avec environ 15 bosses composées, bien individualisées sauf celles des extrémités de l'organe. Griffes inermes; empodium graduellement effilé, atteignant à peu près les $^2/_3$ de la crête interne des griffes. Tube ventral avec, de chaque côté 4 poils marginaux, 2 en seconde rangée et 1 poil à la base. A l'emplacement théorique de la furca, on remarque un champ allongé où la granulation cutanée est remplacée par une fine ponctuation (fig. 11). Epines anales légèrement courbées, env. 10/11e de la crête interne des griffes. Mâles avec 2 poils effilés au milieu du bord postérieur du sternite abd. II et avec un groupe d'une douzaine de poils semblables au bord antérieur de l'abd. III (fig. 9).

Station. Flemlingen (Kreis Landau, Palatinat, Allemagne), sols de vignes, 7-9 et 11-10-1956, leg. W. Hüther. (L'holotype et des paratypes au Muséum de Genève, d'autres paratypes dans la collection de M. W. Hüther).

A propos de l'écologie de *Tullbergia krausbaueri* et d'une récente monographie de Haarløv

Dans mon travail sur l'écologie des Collemboles de sols viticoles suisses (Gisin, 1955, Rev. suisse Zool. 62: 601-648), *Tullbergia krausbaueri* joue un rôle important. Il en est de même dans un récent travail de Haarløv sur les microarthropodes de sols danois (Oikos, suppl. 3, 1960).

Haarløv ne cherche cependant pas à comparer l'éventuelle valeur indicatrice que les données de ces deux travaux pourraient faire ressortir. D'autres auteurs, ignorant moins systématiquement la littérature de langue française, tenteront probablement cette comparaison, et, trouvant des discordances, risquent de conclure à la fragilité de ma principale thèse sur l'écologie des Collemboles, à savoir que la spécialisation écologique des espèces en représente un des aspects les plus intéressants et les plus prometteurs.

Je suis en effet convaincu que les conclusions générales de Bornebusch (1930) concernant l'uniformité qualitative de la faune endogée ont imprimé une orientation fallacieuse aux recherches sur les arthropodes du sol. Il est vrai que du temps de Bornebusch, nos connaissances systématiques n'étaient pas encore assez avancées pour se faire une opinion valable sur ce sujet. Aujourd'hui, on n'a plus cette excuse.

Or, j'ai vu un certain nombre des échantillons de Haarløv. Je cite un exemple (v. aussi Gisin, 1956, Mitt. schweiz. ent. Ges. 29: 339, sous *O. cancellatus*): l'échantillon nº 145 du 11-12-1942, face nord de fourmilière, est composé en grande majorité de *Tullbergia affinis* accompagné de quelques *T. krausbaueri*, de *Onychiurus cancellatus*, etc... Haarløv, lui, indique (p. 151) 414 spécimens de *T. krausbaueri*, 5 de *T. affinis* et aucun *Onychiurus*.

Tullbergia affinis est fréquent dans des sols sableux, tels les sols danois étudiés, mais ses populations sont sujettes à de fortes fluctuations dont la signification serait à étudier.

Proisotoma nidicola Agrell

Nouveau pour la faune suisse: sol d'une vigne à Fontannaz-Leytron, Valais, pullulement par centaines de milliers de spécimens formant des agglomérations de la grandeur d'une pomme (matériel

communiqué par M. M. Baggiolini, des Stations fédérales d'essais agricoles).

L'espèce avait été décrite en 1939 sur la base de deux spécimens trouvés dans un nid de souris à Lund (Suède). Depuis, la littérature ne la mentionne plus. Récemment, M. W. Hüther m'a soumis d'autres exemplaires, trouvés par lui dans des sols de vignes au Palatinat.

Isotomina exilis n. sp. (fig. 12-13)

Justification. — Par l'absence d'yeux, de pigment et de macrochètes ciliés et par la présence d'un mucron bidenté et de sensilles à l'abd. V, la nouvelle espèce se place dans le voisinage

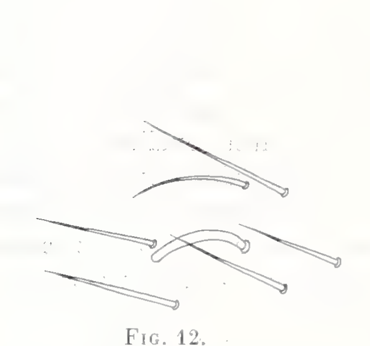


Fig. 12.

Isotomina exilis, n. sp. Sensille de l'abdomen V et quelques poils ordinaires environnants, côté droit. Holotype.



Fig. 13.

Isotomina exilis, n. sp. Dens et mucron, face externe. Paratype.

de *I. scapellifera* Gisin, 1955 et de *debilis* Cassagnau, 1959. Toutefois, ici les sensilles de l'abdomen ne sont pas renflés, mais cylindriques, allongés (fig. 12) et il n'y en a de chaque côté qu'un seul.

Description. — Taille: 0,45 mm. Blanc. Habitus rappelant un *Folsomia* à cause de la furca relativement courte qui n'atteint que le bord antérieur de l'abd. III. Abd. III et IV d'égale longueur. Abd. V + VI soudés. Une suture distincte existe entre abd. IV et V. Téguments lisses. Abd. I-V avec une rangée de poils dressés et plus longs que les poils couchés. Les macrochètes les plus longs de l'abd. VI atteignent presque les $^3/_4$ de la longueur des dentes. Au milieu des deux côtés du segment abd. V + VI, il y a un sensille

en forme de boudin régulièrement courbé, un peu plus court que les macrochètes environnants (fig. 12). Ant. IV avec 4 sensilles distincts, similaires à ceux de l'abd. V + VI, mais plus courts; deux de ces sensilles sont situés l'un devant l'autre à la face externe, un autre est dorsal et le quatrième ventral, approximativement au deuxième tiers de la longueur de l'article. Postantennal oval, bords sans rétrécissement. Yeux absents. Griffes et empodiums petits, inermes. Pas d'ergots différenciés. Furca v. fig. 13.

Stations. — Flemlingen (Kreis Landau, Palatinat, Allemagne), sol de vigne, 20-30 cm de profondeur, 1 exemplaire 14-8-1956, leg. W. Hüther (holotype, conservé au Muséum de Genève).



FIG. 14.
Isotomina caeca, n. sp. Furca, face externe. Holotype.

Obersülzen (Palatinat), sol de vigne, 30-50 cm de profondeur, 1 exemplaire le 26 et un autre le 29-3-1957 (paratypes, conservés au Muséum de Genève et dans la collection de M. W. Hüther).

Isotomina caeca n. sp. (fig. 14)

Justification. — Parmi les *Isotomina* aveugles, la nouvelle espèce prend une place à part à cause du grand mucron quadridenté. Elle est dépourvue de pigment, de macrochètes ciliés, de sensilles sur abd. V et la soie dentale subapicale n'est pas plus longue que les autres soies de la face antérieure de la dens.

Description. — Taille: 1,25 mm. Blanc. Corps presque cylindrique, un peu élargi vers abd. IV. Pas trace de suture entre abd. V et VI. Abd. I-III avec 5-6 rangées transversales très irrégulières de microchètes et 3 + 3 macrochètes dressés, dont la longueur atteint à peu près le double de celle de la moyenne des microchètes. Les plus longs macrochètes de l'abd. VI mesurent 2,3 fois la longueur du mucron. Dans la région où on chercherait la soudure entre abd. V et VI, il y a de chaque côté une demi-

douzaine de microchètes particulièrement fins, mais il n'y a pas de poils sensoriels différenciés sur l'abd. En revanche, on peut distinguer, non sans peine, 6 poils olfactifs minces et pointus sur ant. IV. Ant. I sans sensille différencié. Postantennal allongé, un peu plus long que la largeur d'ant. I, sans ébauches de divisions au milieu. Yeux absents. Griffes sans dents internes ni latérales. Empodium $^{2}/_{3}$ de la longueur de la crête interne de la griffe; son bord externe droit, l'interne bombé, apex étiré en pointe spiniforme. Tibiotarses sans ergot différenciés. Tube ventral de chaque côté vers l'extrémité avec 5-6 poils et 3 + 3 sur la face postérieure. Tenaculum avec 4 + 4 dents et 2 poils. Furca v. fig. 14.

Station. — Corby, Northants. (Lincoln, Angleterre centrale). Sol de prairie près de mines de fer, 5 exemplaires leg. B.N.K. Davis. (Types conservés au Muséum de Genève).

Tome 67, nº 27. — Septembre 1960.

Catalogue des Opisthobranches de la Rade de Villefranche-sur-Mer et ses environs *(Alpes Maritimes)*

par

Hans-Rudolf HAEFELFINGER

Station zoologique de Villefranche
et Zoologische Anstalt der Universität Basel[1]

Avec 1 tableau et 2 cartes.

1. INTRODUCTION

Les Opisthobranches de la Rade de Villefranche-sur-Mer ont été l'objet de nombreuses recherches qui s'étendent, soit en direction de Nice, soit en direction de Monaco (Otto, Risso, Vérany et Vayssière). Tout récemment, une équipe de jeunes zoologues suisses, sous la direction du professeur Portmann, a commencé d'étudier divers problèmes concernant les Opisthobranches. A côté de ma participation à ces travaux, j'ai essayé d'établir le catalogue des Opisthobranches qui ont été trouvés à Villefranche. Les fiches du professeur G. Trégouboff, ancien directeur de la station, ont été un point de départ important, surtout pour les formes pélagiques, et je remercie très vivement M. Trégouboff pour l'aide qu'il a bien voulu me prêter. Ces indications écologiques m'ont été particulièrement précieuses. J'ai eu en plus, à ma disposition, les récoltes de l'équipe bâloise (1956-58). De longues périodes de recherches personnelles (printemps et automne 1955, automne 1957 et d'avril 1958 à octobre 1959) m'ont permis d'établir un catalogue qui est probablement assez complet.

Je remercie vivement M. P. Bougis, directeur de la Station zoologique de Villefranche, pour sa constante bienveillance ainsi

[1] Ce travail a été rendu possible par une subvention du Fonds national suisse de la Recherche scientifique.

que le personnel (MM. D. Heras et Raybaud) pour son assistance dévouée.

J'ai renoncé aux détails sur la synonymie et la diagnose, qui sont données par Mme A. Pruvot-Fol dans la *Faune de France* (« Opisthobranches », 1954). Pour la systématique et la nomenclature, j'ai suivi cet ouvrage, sauf pour quelques espèces dont la synonymie n'est pas claire à l'heure actuelle.

2. MÉTHODES

J'ai effectué mes recherches à l'aide de grattages et fauchages, et en utilisant la drague, le rateau, les fauberts, la griffe et j'ai effectué des plongées libres ou en scaphandre autonome. Les deux dernières méthodes étaient surtout très intéressantes pour la connaissance de l'écologie, parce qu'en récoltant les espèces sur place, on n'a pas de doutes sur la nature du biotope, il est en outre possible ainsi d'explorer les fonds où on a pêché avec les méthodes traditionnelles. C'est grâce à ces recherches et surtout aidé par les indications du Laboratoire océanographique de Villefranche (Directrice: Mlle C. Lalou) que j'ai pu dessiner une carte des fonds de la rade de Villefranche et ses environs.

Malheureusement, la faune des Opisthobranches de la région qui nous occupe est en baisse, surtout à cause de la pollution de l'eau. Plusieurs formes qui se trouvaient au port et le long du « chemin de la ronde » ont disparu et certains points sont presque dépourvus d'Opisthobranches. L'appauvrissement se manifeste en quantité d'individus et en nombre d'espèces. Depuis 1955, plusieurs points se sont modifiés, soit que l'herbier ou les algues côtières aient été recouverts par des déblais de constructions (régions 16 et 24), soit que les fonds coralligènes se soient ensablés (région 27). La pêche dans ces zones n'est plus abondante et certaines espèces ont définitivement disparu.

3. CARACTÉRISTIQUE DES POINTS ET MÉTHODES DE PÊCHE

(Voir cartes 1 et 2)

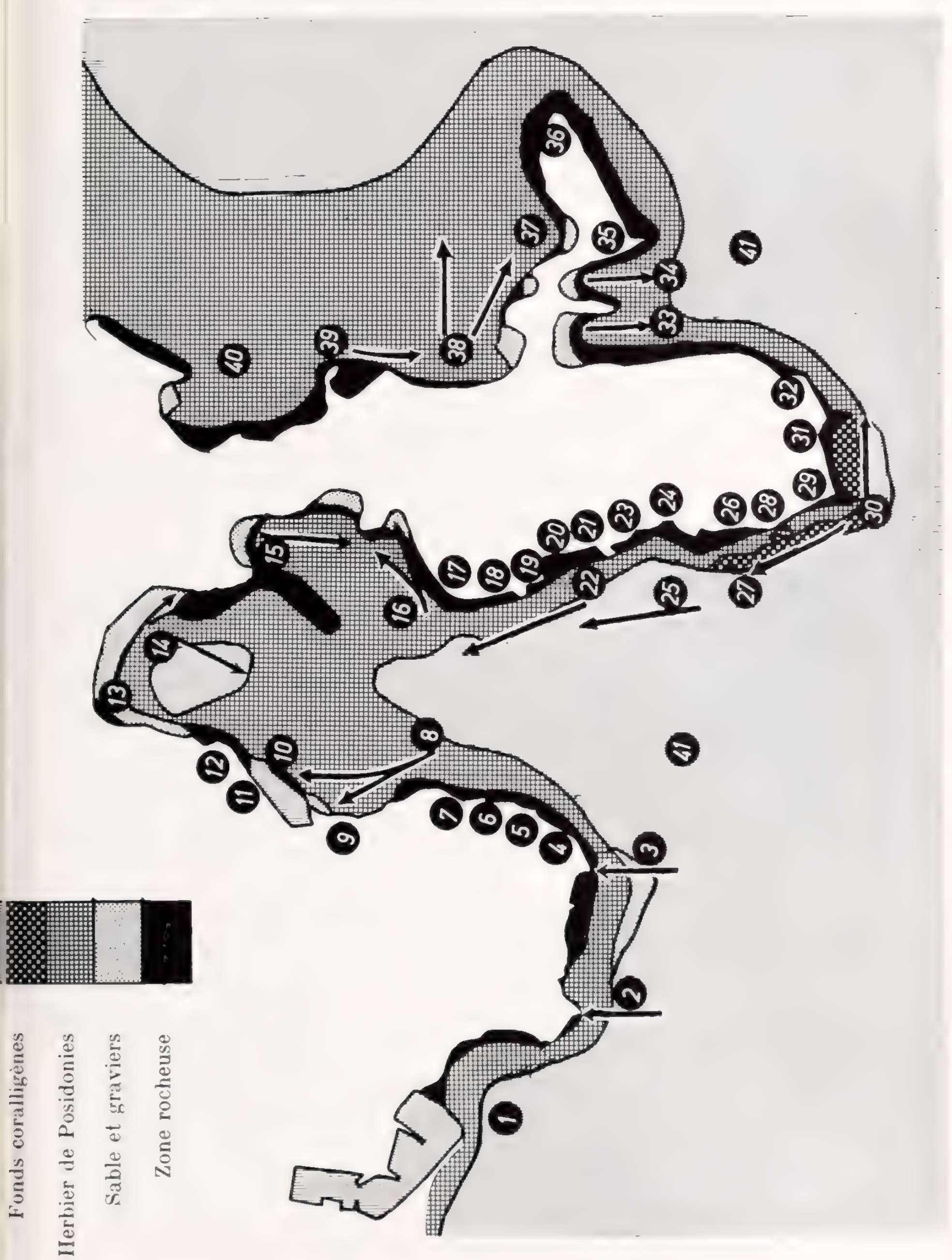
1. Les espèces indiquées sans autre précision pour « la région de Nice » (p. ex. par Risso et Vayssière) sont mentionnées sous ce numéro.

2. *Cap de Nice.* Zone rocheuse, couverte d'algues côtières, talus abrupt jusqu'à 40 m, quelques Posidonies entre les rochers. Fauberts verticaux, plongées.
3. *Pointe des Sans-Culottes*, mêmes conditions que point 2.
4. *Pointe de Gâton*, zone rocheuse couverte d'algues côtières, descente rapide jusqu'à 30 m. Plongées.
5. *Pointe de la Rascasse*, zone rocheuse couverte d'algues côtières, à partir de 25 m herbier lâche. Plongées.
6. *Grotte*, entre 20 et 30 m de profondeur, paroi de rocher couverte d'algues côtières, à la base un grand surplomb (épaisseur de plus de 8 m). Plongées.
7. *Pointe de Madame*, jusqu'à 10 m grands blocs de roches, quelquefois couverts d'algues, le bord est en surplomb. A partir de 10 m, herbier lâche. Plongées, grattoir.
8. Grand herbier dense de Posidonies, quelques taches de sable vaseux, profondeur de 3 à 30 m. Fauchages, drague, rateau, plongées.
9. Herbier devant le Laboratoire, composé de Posidonies et quelques rares Zostères, par places sable vaseux, profondeur jusqu'à 20 m. Fauchages, drague, râteau, plongées, griffe et grattoir.
10. Digue du port, couverte d'algues côtières. A cause de la pollution de l'eau, la faune de cette région est assez réduite, comparée à celle du commencement du siècle, la plupart des trouvailles datent d'avant 1940. Grattoir.
11. *Port de la Darse*, fonds vaseux couvert de quelques algues, surtout *Caulerpa prolifera*, profondeur jusqu'à 8 m. Assez peu d'Opisthobranches à cause de la pollution récente. Drague, griffe et grattoir.
12. *Chemin de la Ronde*, zone rocheuse couverte d'algues côtières. Grattoir.
13. *Anse de la Marinière*, herbier de Posidonies, quelques plages d'algues, profondeur entre 2 et 15 m. Drague, rateau, fauchages griffe et plongées.
14. Grande zone vaseuse en forme de bassin entre 18 et 28 m. Drague.
15. *Anse de Grassuet*, herbier de Posidonies, graviers, jusqu'à 10 m. Fauchages, drague.
16. *Anse de Passable*, herbier de Posidonies, près de la côte graviers et blocs de pierres. Fauchages, rateau, plongées.



CARTE 1.

La rade de Villefranche-sur-Mer et ses environs.
entre les isohypses est de 10 m jusqu'à 100 m, puis 100 m.


Fonds coralligènes
Herbier de Posidonies
Sable et graviers
Zone rocheuse

17. *Pointe du Pilone*, zone rocheuse, couverte d'algues côtières. Plongées.
18. *Pointe de Montoliou*, zone rocheuse couverte d'algues côtières, près de la côte, gravier et blocs de pierre. Plongées.
19. *Pointe de la Gavinette*, mêmes conditions que point 18.
20. *Anse de la Gavinette*, grande paroi de rocher de la surface à 20 m de fond, quelques parties en surplomb, les fonds avec gravier et blocs de pierre, quelques rares Posidonies. Plongées.
21. *Anse de la Cuisse*, zone rocheuse couverte d'algues côtières. Grattoir, plongées.
22. Draguages entre la *Pointe de la Cuisse* et la *Pointe du Pilone*, sable vaseux, profondeur jusqu'à 60 m.
23. *Pointe de la Cuisse*, grande paroi de rocher jusqu'à 25 m de fond, graviers, puis sable. Grattoir, plongées.
24. *Pointe de Crau de Nao*, zone rocheuse couverte d'algues côtières, gravier, herbier de Posidonies très lâche, à 30 m de profondeur sable, Gorgones. Plongées.
25. Draguages entre la *Pointe de Crau de Nao* et la *Pointe de la Cuisse*, fonds sable-vaseux, entre 30 et 50 m.
26. Zone rocheuse couverte d'algues côtières. Grattoir, plongées.
27. Fauberts horizontaux entre *Débarcadère* et *Pointe de Crau de Nao*, zone rocheuse, blocs de pierre et fonds coralligènes (actuellement ensablés), herbier de Posidonies très lâche.
28. *Débarcadère du Phare*, zone rocheuse, descente abrupte à 40 m. Grattoir, plongées.
29. *Pointe Malalongue (Cap Ferrat)*, zone rocheuse couverte d'algues côtières, descente assez abrupte à 30 m et plus. Grattoir, plongées.
30. Fauberts horizontaux et verticaux devant le *Cap Ferrat*, profondeur entre 40 et 60 m.
31. Grand Hôtel Cap Ferrat, zone rocheuse couverte d'algues côtières, fonds de graviers et blocs de pierre. Grattoir, plongées.
32. *Pointe de Caurinière*, mêmes conditions que point 31.
33. *Anse de Lilong*, profondeur jusqu'à 10 m, herbier peu serré, blocs de pierre au fonds, beaucoup d'algues à faible profondeur. Fauchages, drague, plongées, grattoir.
34. *Pointe de Lilong*, zone rocheuse couverte d'algues côtières. Grattoir, plongées.
35. *Anse des Fosses*, mêmes conditions que point 33.

36. *Pointe du Colombier*, zone rocheuse assez découpée, peu d'algues. Plongées, grattoir.
37. *Pointe de l'Hospice*, mêmes conditions que point 36.
38. *Anse de Saint-Jean*, herbier de Posidonies jusqu'à 30 m. Fauchages, drague, plongées.
39. *Pointe Rompa Taton*, zone rocheuse couverte d'algues, à partir de 5 m herbier de Posidonies, quelques régions de sable vaseux. Fauchages, drague, grattoir, plongées.
40. *Anse des Fourmis*, herbier de Posidonies à faible profondeur, jusqu'à 10 m. Fauchages, drague.
41. Faune pélagique, salabre, filets de plancton en stramine, soie ou nylon (coups de filets horizontaux ou verticaux).

4. FAUNE DES OPISTHOBRANCHES DE LA RADE DE VILLEFRANCHE

Mes recherches personnelles permettent de signaler pour la première fois dans la Rade de Villefranche les espèces suivantes (en ordre alphabétique): *Caloria maculata*, *Capellinia exigua*, *Diaphorodoris luteocincta alba*, *Ercolania trinchesi*, *Ercolania viridis*, *Favorinus branchialis*, *Flabellina affinis*, *Glossodoris krohni*, *Glossodoris purpurea*, *Hermea bifida*, *Janolus hyalinus*, *Limenandra nodosa*, *Phylaplysia depressa*, *Placida viridis*, *Stiliger vesiculosus*, *Spurilla neapolitana*, *Tergipes despectus*, *Thordisa filix*, *Thuridilla splendida*, *Trapania lineata*, *Trinchesia amoena*, *Trinchesia foliata*, *Trinchesia leopardina*, *Tritonia gracilis*, *Peltodoris atromaculata*.

En plus l'équipe bâloise a signalé les espèces suivantes: *Bosellia mimetica*, *Ercolania costai*, *Aegires punctilucens*, *Diaphorodoris luteocincta papillata*, *Diaphorodoris luteocincta reticulata*, *Hermaeopsis variopicta*, *Lobifera cristallina*, *Polycera (Greilada) elegans*, *Trapania maculata*. Deux Glossodoridiens, et deux Aeolidiens ne sont pas encore décrits (voir chapitre 5).

Liste systématique. Les formes avec le signe + sont signalées par l'équipe bâloise.

Les holotypes des espèces nouvelles décrites par moi, ainsi qu'une grande partie du matériel marqué par + se trouvent au Muséum d'Histoire naturelle de Bâle.

Cephalaspidae

Acteonidae.

\+ *Actaeon tornatilis* (Linné) 1758 *(Voluta tornatilis).*
Points: 14, 22, vase 10-20 m.

Bullidae.

\+ *Bulla striata* Bruguière 1789.
Points: 8, 11, vase.

Volvula acuminata (Bruguière) 1792 *(= Bulla acuminata).*
Point: 13, souches de Posidonies.

Gasteropteridae.

Gasteroperon rubrum (Rafinesque) 1814 *(= Sarcopterus rubrum).*
Points: 27, 30, fonds coralligènes.

Aglajidae.

\+ *Aglaja tricolorata* Renier 1804.
Points: 21, 22, rochers, algues côtières.

Runcinidae.

\+ *Runcina coronata* (Quatrefages) 1844 *(= Pelta coronata).*
Points: 8, 13, 15, souches de Posidonies.

Scaphandridae.

Scaphander lignarius (Linné) 1788 *(= Bulla lignarius).*
Points: 14, 22, vase.

Cylichna cylindracea (Pennant) 1777 *(= Bulla cylindracea).*
Point: 13, souches de Posidonies.

Philinidae.

\+ *Philine quadripartita* Ascanius 1772.
Points: 8, 11, 13, 14, 30, vase.

\+ *Philine catena* (Montagu) 1803 *(= Bulla catena).*
Points: 11, 13, 14, 15, 16, 22, vase, fonds coralligènes.

Atyidae.

\+ *Haminaea hydatis* (Linné) 1758 *(= Bulla semisulcata).*
Points: 11, 14, 16, vase, algues côtières.

Retusidae.

Retusa semisulcata (Philippi) 1836 *(= Bulla semisulcata).*
Points: 13, 14, herbier, graviers.

Retusa umbilicata (Montagu) 1804 *(= Bulla umbilicata).*
Points: 13, 14, herbier, graviers.

Ringiculidae.

Ringicula buccinea (Brocchi) 1814 (= *Voluta buccinea*).
Point: 1.

Anaspidea

Aceridae.

Acera bullata Müller 1776.
Point: 11, vase, herbier.

Aplysidae.

\+ *Aplysia depilans* (Linné) 1767 (= *Laplysia depilans*).
Points: 8, 13, 15, 16, herbier.

\+ *Aplysia fasciata* Poiret 1789.
Point: 9, herbier, vase.

\+ *Aplysia rosea* Rathke 1799.
Point: 8, 13, 15, 16, herbier.

\+ *Notarchus punctatus* Philippi 1836.
Points: 8, algues côtières.

\+ *Aplysiella virescens* (Risso) 1818 (= *Aplysia virescens*).
Points: 8, 13, 15, 16, herbier.

\+ *Phyllaplysia depressa* (Cantraine) 1835 (= *Aplysia depressa*).
Points: 8, 13, 15, 16, herbier.

Thecosomata

Spiratellidae.

Spiratella bullimoides d'Orbigny 1836.
Point: 41, pélagique.

\+ *Spiratella inflata* d'Orbigny 1836.
Point: 41, pélagique.

Spiratella trochiformis d'Orbigny 1836.
Point: 41, pélagique.

Cavolinidae.

\+ *Clio pyramidata* Linné 1767.
Point: 41, pélagique.

\+ *Creseis acicula* Rang 1828.
Point: 41, pélagique.

\+ *Creseis virgula* Rang 1828.
Point: 41, pélagique.

+ *Styliola subula* Quoy et Gaimard 1827.
Point: 41, pélagique.
+ *Hyalocyclis striata* Rang 1828.
Point: 41, pélagique.
+ *Diacria trispinosa* Leseur 1821.
Point: 41, pélagique.
Diacria quadridentata Leseur 1821.
Point: 41, pélagique.
+ *Cavolinia inflexa* Leseur 1813.
Point: 41, pélagique.
Cavolinia gibbosa Rang 1836.
Point: 41, pélagique.
+ *Cavolinia tridentata* Forskal 1775.
Point: 41, pélagique.

Pseudothecosomata

Peraclidae.
Peraclis reticulata d'Orbigny 1836.
Point: 41, pélagique.

Cymbuliidae.
+ *Cymbulia péroni* de Blainville 1818.
Point: 41, pélagique.
+ *Gleba chrysostica* Krohn 1844.
Point: 41, pélagique.
Gleba chordata Forskal 1775.
Point: 41, pélagique.

Gymnosomata

Pneumodermatidae.
+ *Pneumoderma atlanticum* Oken 1816.
Point: 41, pélagique.
Pneumoderma mediteranea Van Beneden 1836.
Point: 41, pélagique.
— *Pneumodermopsis ciliata* (Gegenbaur) 1855 *(= Pneumoderma ciliata).*
Point: 41, pélagique.

Pneumodermopsis paucidens (Boas) 1886 *(= Dexiobranchaea paucidens).*
Point: 41, pélagique.
+ *Pneumodermopsis canephora* Pruvot-Fol 1924.
Point: 41, pélagique.

Cliopsidae.
Cliopsis krohni Troschel 1854.
Point: 41, pélagique.

Clionidae.
Paraclione longicaudata (Souleyet) 1840 *(= Cliodita longicaudata).*
Point: 41, pélagique.

Monostichoglossa

Oxynoaeidae.
Oxynoe olivacea Raffinesque 1819.
Point: 11, vase, sur *Caulerpa prolifera.*

Lobigeridae.
Lobiger serradifalci (Calcara) 1840 *(= Bulla serradifalca).*
Point: 11, herbier.

Polybranchidae.
+ *Caliphylla mediterranea* Costa 1867.
Points: 8, 11, algues côtières.
+ *Lobifera cristallina* Trinchese 1881.
Points: 8, 28, algues côtières.
+ *Bosellia mimetica* Trinchese 1890.
Points: 4, 5, 6, 7, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 26, 28, 29, 31, algues côtières, sur *Halimeda tuna.*

Stiligeridae.
+ *Stiliger vesiculosus* (Deshayes) 1864 *(= Custiphorus vesiculosus).*
Points: 13, 16, herbier.
+ *Hermaea bifida* (Montagu) 1816 *(= Doris bifida).*
Points: 13, 16, 28, algues côtières.
+ *Placida dendritica* (Alder et Hancock) 1855 *(= Hermaea dendritica).*
Points: 5, 6, 7, 20, 21, 23, 24, 26, 28, algues côtières, Bryopsis plumosa.

+ *Placida viridis* (Trinchese) 1873 *(= Laura viridis).*
Points: 24, 26, algues côtières, Bryopsis plumosa.
+ *Hermaeopsis variopicta* Costa 1865.
Points: 21, 23, 24, algues côtières.
+ *Ercolania viridis* (Costa) 1866 *(= Embletonia viridis).*
Points: 21, 23, algues côtières.
+ *Ercolania costai* Pruvot-Fol 1951.
Point: 21, algues côtières.
+ *Ercolania trinchesi* Pruvot-Fol 1951.
Point: 21, algues côtières.
Costasiella virescens Pruvot-Fol 1951.
Point: Monaco.

Elysiadae.
+ *Elysia timida* (Risso) 1818 *(= Notarchus timida).*
Points: 16, 34, 39, algues côtières.
+ *Elysia viridis* (Montagu) 1810 *(= Laplysia viridis).*
Points: 5, 6, 8, 9, 10, 13, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 26, 34, 39, algues côtières, *Codium tomentosum.*

Placobranchidae.
+ *Thuridilla splendida* (Grube) 1861 *(= Elysia splendida).*
Points: 6, 9, 20, 21, 28, 29, algues côtières.

Limapontidae.
+ *Limapontia nigra* (Müller) 1773 *(= Fasciola niger).*
Point: 16, herbier.

Notaspidea

Umbraculidae.
Umbraculum mediteraneum (Lamarck) 1812 *(= Umbrella mediteraneum).*
Point: 22, vase, sable.

Pleurobranchidae.
Pleurobranchus meckeli Leue 1813.
Point: 22, vase, sable.
Oscanius testudinaris (Cantraine) 1840 *(= Pleurobranchus testudinaris).*
Point: 16, vase, sable.

Oscanius tuberculatus (Meckel) 1808 *(= Pleurobranchus tuberculatus).*
Point: 16, vase, sable.
Berthella aurantiaca (Risso) 1818 *(= Pleurobranchus aurantiacus).*
Points: 13, 14, sable, vase.
Berthella ocellata (Delle Chiaje) 1828 *(= Pleurobranchus ocellatus).*
Point: 1.
+ *Berthella plumula* (Montagu) 1803 *(= Bulla plumula).*
Points: 13, 14, 20, vase à faible profondeur).
Berthella stellata (Risso) 1826 *(= Pleurobranchus stellatus).*
Points: 13, 14, 20, vase, sable.
Berthellina engeli Gardiner 1936.
Point: 1.

Nudibranchiata

Dorididae.

+ *Doris verrucosa* Cuvier 1804.
Points: 8, 9, 13, 16, 22, algues côtières, souches de Posidonies.
Archidoris tuberculata Cuvier 1804.
Points: 11, 13, 22, 25, vase.
Anisodoris stellifera Vayssière 1904.
Point: 1, vase, sable.
+ *Peltodoris atromaculata* Bergh 1880.
Points: 6, 20, 23, 24, rochers sur Petrosia fisiformis.

Aegiretidae.

+ *Aegires leuckarti* Vayssière 1904.
Points: 23, 27, algues côtières.
+ *Aegires punctilucens* (d'Orbigny) 1837 *(= Polycera punctilucens).*
Points: 8, 9, 16, 19, 20, 21, 23, algues côtières, herbier.

Platydorididae.

Platydoris argo (Linné) 1767 *(= Doris argo).*
Point: 27, vase.

Diaululidae.

\+ *Thordisa filix* Pruvot-Fol 1951.
Point: 23, sable, algues côtières.

Glossodorididae.

Glossodoris elegantula Schultz-Philippi 1844.
Points: 8, 16, herbier.

Glossodoris coelestis (Deshayes) 1866 *(= Goniodoris coelestis).*
Point: Monaco.

\+ *Glossodoris gracilis* (Rapp) 1827 *(= Doris gracilis).*
Points: 8, 9, 11, 13, 15, 16, herbier, algues côtières.

\+ *Glossodoris krohni* (Verany) 1846 *(= Doris krohni).*
Points: 8, 13, 16, herbier.

\+ *Glossodoris luteorosea* (Rapp) 1827 *(= Doris luteorosea).*
Points: 13, 15, 16, herbier.

\+ *Glossodoris purpurea* Laurillard 1831.
Points: 6, 16, herbier, rochers.

\+ *Glossodoris tricolor* Cantraine 1841.
Points: 8, 13, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 26, 28, 29, 30, 34, 39, algues côtières, herbier.

\+ *Glossodoris valenciennesi* (Cantraine) 1841 *(= Doris valenciennesi).*
Point: 23, graviers.

Echinochila.

Echinochila laevis Linné 1767.
Point: 1.

Echinochila pellucida (Risso) 1826 *(= Doris pellucida).*
Point: 1.

Discodorididae.

\+ *Discodoris indecora* Bergh 1880.
Points: 16, 23, herbier, rochers.

Rostangidae.

\+ *Rostanga rubra* (Risso) 1818 *(= Doris rubra).*
Point: 27, rochers.

Rostanga perspicillata Bergh 1881.
Point: 1.

Kentrodorididae.

Jorunna tomentosa (Cuvier) 1804 *(= Doris tomentosa).*
Point: 20.

Lamellidorididae.

Lamellidoris neapolitana (Delle Chiaje) 1841 *(= Idalia neapolitana).*
Point: 1.

\+ *Diaphorodoris luteocincta papillata* (Sars) 1870 *(= Lamellidoris luteocincta).*
Points: 8, 16, herbier.

\+ *Diaphorodoris luteocincta alba* Portmann 1960.
Points: 16, herbier.

\+ *Diaphorodoris luteocincta reticulata* Portmann 1960.
Points: 16, herbier.

Goniodorididae.

\+ *Goniodoris castanea* Alder et Hancock 1845.
Points: 8, 11, herbier.

Okenia elegans Bronn 1826.
Point: 1, vase.

Okenia mediteranea (von Ihering) 1886 *(= Idalia mediteranea).*
Point: 1.

Ancula gibbosa (Risso) 1818 *(= Tritonia gibbosa).*
Point: 1.

\+ *Trapania fusca* (Lafont) 1874 *(= Drepania fusca).*
Points: 8, 13, 15, 16, 20, herbier, algues côtières.

Trapania lineata Haefelfinger 1960.
Points: 8, 16, herbier.

\+ *Trapania maculata* Haefelfinger 1960.
Point: 16, herbier.

Polyceridae.

\+ *Polycera elegans* (Bergh) 1894 *(= Greilada elegans).*
Points: 8, 16, herbier.

\+ *Polycera quadrilineata* (Müller) 1776 *(= Doris quadrilineata).*
Points: 8, 13, 14, 15, 16, 39, algues côtières, herbier.

Caloplocamus ramosus (Cantraine) 1835 *(= Doris ramosus).*
Point: 20, vase.

Dendrodorididae.

\+ *Dendrodoris limbata* (Cuvier) 1804 *(= Doris limbata).*
Points: 8, 13, herbier, sous pierres à faible profondeur.

Dendrodoris grandiflora (Rapp) 1827 *(= Doris grandiflora).*
Point: 1.

Doriopsilla areolata Bergh 1880.
Point: 1.

Arminidae.
Armina maculata Rafinesque 1814.
Point: 1.
Armina tigrina Rafinesque 1814.
Point: 1.

Tritoniadae.
+ *Tritonia gracilis* Risso 1818.
Points: 16, 21, 28, algues côtières, herbier.
Tritonia homberghi Cuvier 1802.
Points: 20, 26, 31, 33, algues côtières, herbier.
+ *Tritonia villafranca* Vayssière 1901.
Points: 8, 16, 21, 23, algues côtières, herbier.
Marionia blainvillea Risso 1818.
Point: 30, herbier, fonds coralligènes.
+ *Marionia tethydea* (Delle Chiaje) 1828 *(= Tritonia tethydea).*
Points: 8, 13, herbier.

Fimbriidae.
+ *Fimbria fimbria* Bohadsch 1761.
Point: 41, pélagique.

Hancockidae.
+ *Hancockia uncinata* (Hesse) 1872 *(= Doto uncinata).*
Points: 8, 13, 16, herbier algues côtières.

Lomanotidae.
+ *Philliroe bucephala* Péron et Lesueur 1810.
Point: 41, pélagique.
Cephalopyge mediteranea Pierantoni 1923.
Point: 41, pélagique.

Janolidae.
+ *Janolus hyalinus* Alder et Hancock 1854.
Point: 16, herbier.

Tergipedidae.
+ *Tergipes despectus* (Johnston) 1838 *(= Eolis despectus).*
Points: 13, 16, herbier.
+ *Antiopella cristata* (Delle Chiaje) 1841 *(= Eolidia cristata).*
Points: 11, 20, vase.

Madrellidae.

Madrella aurantiaca Vayssière 1902.
Points: 30, 31, fonds coralligènes.

Cuthonidae.

+ *Trinchesia amoena* (Alder et Hancock) 1845 *(= Eolis amoena).*
Points: 8, 13, 15, 16, herbier.
+ *Trinchesia coerulea* (Montagu) 1814 *(= Doris coerulea).*
Points: 13, 16, 18, 19, 21, 23, 24, 26, 28, 29, algues côtières, herbier.
+ *Trinchesia foliata* (Forbes et Goodsir) 1839 *(= Eolis foliata).*
Points: 16, 23, algues côtières, herbier.
+ *Trinchesia leopardina* (Vayssière) 1888 *(= Amphorina leopardina).*
Points: 10, 11, algues côtières, herbier.

Facelinidae.

Facelina coronata (Forbes) 1839 *(= Eolidia coronata).*
Point: 1.
+ *Facelina drummondi* (Thompson) 1843 *(= Eolis drummondi).*
Points: 16, 29, algues côtières, herbier.
+ *Facelina punctata* (Alder et Hancock) 1855 *(= Eolis punctata).*
Point: 16, herbier.
+ *Facelina quatrefagesi* (Vayssière) 1888 *(= Acanthopsole quatrefagesi).*
Point: 1, herbier.
+ *Facelina rubrovittata* Costa 1866.
Points: 8, 11, 13, 14, herbier.
+ *Facelinopsis marioni* (Vayssière) 1888 *(= Facelina marioni).*
Points: 20, 23, 28, 29, algues côtières.
+ *Caloria maculata* Trinchese 1888.
Points: 8, 16, herbier.
+ *Hervia peregrina* (Gmelin) 1789 *(= Doris peregrina).*
Points: 10, 16, herbier, algues côtières.
+ *Favorinus branchialis* (Rathke) 1806 *(= Doris branchialis).*
Points: 8, 13, 14, 15, 16, herbier.

Dotoidae.

\+ *Doto coronata* (Gmelin) 1791 *(= Doris coronata).*
Points: 8, 16, 20, 24, 28, algues côtières, herbier.

Doto floridicola Simroth 1888.
Point: 1, algues côtières.

\+ *Doto paulinae* Trinchese 1881.
Point: 21, algues côtières.

Doto rosea Trinchese 1881.
Point: 11, algues côtières.

Flabellinidae.

\+ *Flabellina affinis* (Gmelin) 1791 *(= Doris affinis).*
Points: 6, 7, 20, 24, sur Eudendrium ramosum.

\+ *Calmella cavolini* (Vérany) 1846 *(= Calma cavolini).*
Points: 6, 7, 13, 20, 23, algues entières.

Eubranchidae.

\+ *Eubranchus tricolor* Forbes 1838.
Points: 8, 13, 15, 16, 20, 21, 28, 29, algues côtières, herbier.

\+ *Capellinia exigua* (Alder et Hancock) 1848 *(= Eolis exigua).*
Points: 9, 21, algues côtières.

Coryphellidae.

\+ *Coryphella pedata* (Montagu) 1815 *(= Doris pedata).*
Points: 13, 16, sur Eudendrium ramosum.

\+ *Coryphella lineata* (Loven) 1844 *(= Eolis lineata).*
Point: 16, herbier.

Aeolididae.

\+ *Eolidina rubra* (Cantraine) 1835 *(= Cavolina rubra).*
Points: 8, 16, herbier.

\+ *Spurilla neapolitana* (Delle Chiaje) 1823 *(= Eolida neapolitana).*
Points: 13, 16, sur *Aiptasia mutabilis.*

\+ *Limenandra nodosa* Haefelfinger et Stamm 1958.
Points: 8, 13, 16, 38, 39, herbier.

\+ *Berghia coerulescens* (Laurillard) 1830 *(= Eolidida coerulescens).*
Point: 16, herbier.

Berghia modesta Trinchese 1882.
Point: 1.

Fionidae.

+ *Fiona pinnata* (Eschscholtz) 1831 *(= Eolidia pinnata).*
  Point: 41, pélagique.

Incertae sedis.

Doris testudinaris Risso 1826.
Doris marmorata Risso 1826.
Doris lutea Risso 1826.
Eolidia cerentastoma Otto 1823.
Eolidia hystrix Otto 1823.
Eolis flavescens Risso 1826.
Eolis virescens Risso 1826.
Facelina veranyana Bergh 1876.
Glossodoris pallens (Rapp) 1827 *(= Doris pallens).*
Aeolidia I (pas encore décrit).
  Points: 8, 16, herbier.
Aeolidia II (pas encore décrit).
  Points: 13, 16, herbier.
Aeolidia III (pas encore décrit).
  Points: 7, 20, 29, sur *Eudendrium ramosum.*
Glossodoris I (pas encore décrit).
  Point: 8, herbier.
Glossodoris II (pas encore décrit).
  Points: 8, 16, herbier.

La liste systématique ne peut pas être complète. Elle n'est qu'un catalogue de toutes les espèces d'Opisthobranches trouvées dans la Rade de Villefranche et ses environs; en tout, 172 espèces.

Malgré mes recherches sur les synonymies, il subsiste quatre formes qu'il m'a été impossible d'identifier. Je les ai réunies dans un groupe qui contient également les formes nouvelles trouvées pendant mes recherches à Villefranche.

En ce qui concerne les points de capture et les profondeurs où j'ai trouvé les divers Opisthobranches, seules les indications basées sur les plongées et les grattages sont vraiment exactes. Les méthodes habituelles (fauchages, draguages, etc) ne donnent que des résultats imprécis.

J'ai renoncé à faire des remarques sur la nourriture sauf dans les cas absolument sûrs (p. ex. *Peltodoris, Bosellia*). On ne trouve

que trop d'indications douteuses ou fausses qui proviennent d'observations superficielles. Il est donc indispensable de faire des expériences minutieuses au laboratoire et si possible sur place. J'espère pouvoir étudier ces problèmes et compléter progressivement les indications écologiques au cours de mes études ultérieures.

Le nombre d'espèces serait sûrement encore plus grand si d'autres moyens techniques avaient été employés. L'équipement du bateau de la Station ne permet pas les draguages profonds (plus que 30 m), ni l'emploi des fauberts. J'espère compléter prochainement mes recherches en prélevant sur les fonds supérieurs à 40 m.

6. LISTE ALPHABÉTIQUE DES OPISTHOBRANCHES ET DISTRIBUTION DANS LE TEMPS

Explications: Cette deuxième liste ne donne que la répartition des Opisthobranches dans le courant de l'année. Ici encore, les formes connues sont séparées des formes douteuses. La première colonne donne les noms d'espèces. Les cinq suivantes les noms des auteurs qui ont travaillé dans la région de Villefranche (O = Otto, L = Laurillard, R = Risso, V = Vayssière, T = Trégouboff, P = Pruvot-Fol). Les colonnes 55-59 fournissent les résultats de mes recherches et ceux de l'équipe bâloise. La colonne suivante (fr) indique la fréquence absolue et les douze colonnes (1 à 12) la fréquence annuelle (en moyenne, si les formes ont été trouvées plusieurs fois). Les signes signifient: o = 1 trouvaille, △ = 2-4, □ = 5-9, ● = 10-19, ▲ = 20-49, ■ = plus de 50 exemplaires, + = signalé, mais quantité inconnue. La colonne « po » indique les formes dont la ponte est connue avec certitude.

	Espèces	D	R	V	T	P	55	56	57	58	59	fr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	po	Nourriture
1	*Acera bullata*	J			×							AR													×	
2	*Acteon tornatilis*				×						×	AR									⊙					
3	*Aegires leuckarti*	J		×			×		×	×	×	AC	▲	▲		□	□	⊙		□	△	□	⊙	△		
4	***Aegires punctilucens***								×	×		R							□							
5	*Aglaja depicta*		×																							
6	*Aglaja tricolorata*		×	×	×					×	×	AR										△	⊙			
7	***Ancula gibbosa***		×	×								R			+	+										
8	*Anisodoris stellifera*					×						RR														
9	*Antiopella cristata*				×			×				R	+	+			●						+	+		
10	***Aplysia depilans***	J			×		×		×	×	×	CC	●	■	+	■	■	□	+	□	□	△	+	+	×	algues vertes
11	*Aplysia fasciata*	J	×		×				×	×	×	CC						+	+	□	□	□	+	+	×	algues vertes
12	***Aplysia rosea***	J	×		×		×		×	×	×	CC	●	●	●	■	■	●	+	●	□	□	+	+	×	algues vertes
13	*Aplysiella virescens*	J	×	×	×						×	AC	+	+							+	⊙	+	+	×	
14	***Archidoris tuberculata***	J		×	×							AC			+	+	+									
15	***Armina maculata***			×								RR														
16	*Armina tigrina*			×								RR														
17	*Berghia coerulescens*	L										RR														
18	*Berghia modesta*								×			RR						⊙								
19	***Berthella aurantiaca***		×	×	×							AR			+	+										
20	*Berthella ocellata*			×	×							R														
21	*Berthella plumula*				×					×		AR		⊙										⊙		
22	*Berthella stellata*		×		×							R	+											+		
23	*Berthellina engeli*					×						R														
24	*Bosellia mimetica*							×	×	×	×	CC			△	△	△	■	■	■	■	■	△	△	×	*Halimeda tuna*
25	*Bulla striata*				×				×	×		AC					△	△							×	
26	*Caliphylla mediterranea*				×	×		×	×			R	+	+			⊙	⊙				+	+	+		
27	*Calmella cavolini*			×	×			×	×	×	×	C	⊙	△		△	□	△	▲	□	△	△			×	*Eudendrium ramosum*
28	***Caloplocamus ramosus***				×	×						R														
29	*Caloria maculata*									×		R														
30	*Capellinia exigua*								×	×	×	C		△		△	▲	●				⊙				

	Espèces	D	R	V	T	P	55	56	57	58	59	fr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	po	Nourriture
31	*Cavolinia gibbosa*				×							R	+	+	+	+										
32	*Cavolinia inflexa*			×	×				×	×	×	CC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	×	
33	*Cavolinia tridentata*		×		×				×	×	×	C	+	+	+	+						+	+	+	×	
34	*Cephalophyge mediteranea*				×							RR					⊙									
35	*Clio cuspidata*				×							AC	+	+	+	+							+	+		
36	*Clio pyramidata*		×	×	×				×	×	×	C	+	+	+	+						+	+	+		
37	*Cliopsis krohni*				×							C	+	+	+	+						+	+	+		
38	*Coryphella lineata*			×		×		×				RR														
39	*Coryphella pedata*			×	×			×	×	×	×	C			△	⊙	△	△		△	△	△			×	*Eudendrium ramosum*
40	*Costasiella virescens*											RR														
41	*Creseis acicula*	J		×	×		×		×	×	×	CC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	×	
42	*Creseis virgula*	J										AC														
43	*Cymbulia peroni*	J										C										□				
44	*Cylichna cylindracea*		×		×							C							+	+	+					
45	*Dendrodoris grandiflora*		×	×								RR														
46	*Dendrodoris limbata*	J O	×	×	×						×	R				⊙									×	
47	*Diacria quadrilineata*				×							R			+	+										
48	*Diacria trispinosa*			×	×				×	×	×	AR	+	+	+	+										
49	*Diaphorodoris luteocincta alba*						×	×				R					△						⊙			
50	*Diaphorodoris luteocincta papillata*							×		×	×	AR			△	△	△	⊙		⊙						
51	*Diaphorodoris luteocincta reticulata*							×				R			⊙		⊙									
52	*Discodoris indecora*					×				×		R	△							△						
53	*Doriopsilla areolata*					×						RR														
54	*Doris verrucosa*	J		×	×				×	×	×	C	▲	▲		□	□				⊙	△	⊙	△		
55	*Doto coronata*	J		×			×	×	×	×	×	C	●	●	△	□	□	□		□	□	□	△			

	Espèces	D	R	V	T	P	55	56	57	58	59	fr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	po	Nourriture
56	*Doto floridicola*									×	×	RR										⊙				
57	*Doto paulinae*									×		RR										△				
58	*Doto rosea*			×	×							RR														
59	*Echinochilla obvelata*			×																						
60	*Echinochilla pellucida*		×																							
61	*Elysia timida*	J	×	×						×	×	RR					△		△		⊙				×	
62	*Elysia viridis*	J	×	×	×		×	×	×	×	×	CC	■	■	▲	■	■	●	■	●	□	■	■	■	×	*Codium tomentosum*
63	*Eolidina rubra*						×	×	×			AR			⊙		⊙	⊙								
64	*Ercolania costai*							×	×	×	×	AR				○	△	△				△				
65	*Ercolania trinchesi*						×	×	×	×	×	AC	⊙			□	□	□		□	□	△				
66	*Ercolania viridis*							×	×	×		AR				⊙	△	△				△				
67	*Eubranchus tricolor*				×				×	×	×	AC		△		□	■	▲	□	○	△	△	□	△		*Obelia dichotoma*
68	*Facelina coronata*			×								RR														
69	*Facelina drummondi*			×			×	×		×		R			⊙	⊙	⊙				△					
70	*Facelina punctata*			×		×	×					R				⊙										
71	*Facelina quatrefagesi*			×		×						R														
72	*Facelina rubrovittata*			×	×		×		×	×	×	AC	△	○		△	●	△	△		⊙	△			×	
73	*Facelinopsis marioni*				×		×	×	×	×	×	AC			△	⊙	△	△				□		△		
74	*Favorinus branchialis*						×	×	×	×	×	C		□	⊙	●	●	△	⊙	△		△			×	
75	*Fimbria fimbria*	J	×	×	×					×		R			+	⊙	+	+	+	+	+				×	
76	*Fiona pinnata*				×			×				R	+			+	△	+						+	×	*Velella spirans*
77	*Flabellina affinis*										×	AC							△	△	△	△			×	*Eudendrium ramosum*
78	*Galvina tricolor*			×								RR														
79	*Gasteropteron rubrum*				×							R														
80	*Gleba chrysostica*			×	×							R			+	+										

	Espèces	D	R	V	T	P	55	56	57	58	59	fr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	po	Nourriture
81	*Gleba chordata*			×	×							R		+	+	+	+									
82	*Glossodoris coelestis*					×						R														
83	*Glossodoris elegantula*				×	×						RR														
84	*Glossodoris gracilis*	J		[illegible]	[illegible]	[illegible]		[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	CC	□	■	[illegible]	●	●	□	□	□	□	□	■	□	×	
85	*Glossodoris krohni*								×	×	×	AR				△	△	⊙			△		△			
86	*Glossodoris luteorosea*				×		×		×	×	×	AR		⊙			△		⊙	⊙	△	⊙	⊙		×	
87	*Glossodoris purpurae*						×		×	×	×	AR				⊙	△	⊙			⊙	⊙				
88	*Glossodoris tricolor*		[illegible]	[illegible]	[illegible]		[illegible]		[illegible]	[illegible]	[illegible]	CC	□	●	[illegible]	[illegible]	▲	■	■	□	[illegible]	[illegible]	△	△	×	
89	*Glossodoris valenciennesi*				×						×	R									⊙					
90	*Goniodoris castanea*				×					×		RR		⊙			⊙									
91	*Haminaea hydatis*		×		×				×	×		AR			+		⊙		⊙							
92	*Hancockia uncinata*				×			×		×	×	AC	⊙	⊙		□	●	⊙			⊙	△	△	△	×	
93	*Hermaea bifida*						[illegible]		[illegible]	[illegible]	[illegible]	C	[illegible]	●		△	△	□		□	△	△	□			
94	*Hermaeopsis variopicta*							×	×	×	×	R		⊙			⊙	⊙				△				
95	*Hervia peregrina*		×		×				×			R						⊙					⊙			
96	*Hyalocyclis striata*				×				×	×	×	C	+	+	+	+						+	+	+		
97	*Janolus hyalinus*	J					×	×			×	R			⊙	△	⊙									
98	*Jorunna tomentosa*				×							R														
99	*Lamellidoris neapolitana*					×						RR														
100	*Limacia clavigera*				×		×	×	×	×		AC					△	⊙		□	△		□	⊙		
101	*Limapontia nigra*				×			×				R					△									
102	*Limenandra nodosa*						×	×	×	×	×	AR							△	⊙	△				×	
103	*Lobifera cristallina*				×				×			RR						⊙				⊙				
104	*Lobiger philippi*				×							R								+	+	+	+			*Caulerpa prolifera*
105	*Lomanotus genei*	J		×	×			×				R					⊙					⊙				
106	*Madrella aurantiaca*			×	×							RR														
107	*Marionia blainvillea*	J	×	×	×							R				+	+									
108	*Marionia tethydea*			×						×	×	R				⊙	⊙				⊙	⊙				
109	*Notarchus punctatus*			×	×			×				R					⊙									
110	*Okenia elegans*			×								RR														

	Espèces	D	R	V	T	P	55	56	57	58	59	fr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	po	Nourriture
111	*Okenia mediteranea*			×		×						R														
112	*Oscanius testudinarius*				×							R			⊙				⊙							
113	*Oscanius tuberculatus*			×	×							AR	+	+	+								+	+		
114	*Oxynoe olivacea*				×							R									+	+				*Caulerpa prolifera*
115	*Paraclione longicaudata*				×							R									△					
116	*Peltodoris atromaculata*										×	AC							△	△	△					*Petrosia fisiformis*
117	*Peraclis reticulata*				×							RR				+										
118	*Peraclis rostralis*				×							R				+										
119	*Philine catena*			×							×	AR	□	●		△										
120	*Philine quadripartita*		×		×						×	AR														
121	*Phylaplysia depressa*								×	×	×	AR						△	□	△	△	○				
122	*Phyllirhoe bucephala*	J	×	×	×		×			×		AC	+	+	+				+	+	+	+				
123	*Placida dendritica*	J		×	×		×	×	×	×	×	CC	●	●	●	●	□	⊙	⊙							*Bryopsis plumosa*
124	*Placida viridis*									×		RR			⊙	⊙										*Bryopsis plumosa*
125	*Platydoris argo*											R														
126	*Pneumoderma atlanticum*			×	×							AR			+	+	+									
127	*Pneumoderma mediterraneum*	J		×	×							AC	+	+	+	+	+									
128	*Pneumodermopsis canephora*				×		×			×	×	AR	+	+	+	⊙	⊙				■			+		
129	*Pneumodermopsis ciliata*				×					×		AR	+	⊙	+	+						⊙		+		
130	*Pneumodermopsis paucidens*				×							R			+	+						▲				

	Espèces	*D*	*R*	*V*	*T*	*P*	*55*	*56*	*57*	*58*	*59*	*fr*	*1*	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*	*11*	*12*	*po*	*Nourriture*
131	*Polycera elegans*						×	×	×			RR					△					⊙				
132	*Polycera quadrilineata*	J										CC	●	▲	●	●	■	■	●	●	■	●	●	●		
133	*Pleurobranchus meckeli*	J		×								R														
134	*Retusa semisulcata*		×		×							AR														
135	*Retusa umbilicata*				×							R														
136	*Ringicula buccinea*			×								R														
137	*Runcina coronata*		×								×	AC	□	▲		▲	▲									
138	*Rostanga perspiculata*			×								RR														
139	*Rostanga rubra*		×		×						×	R		⊙												
140	*Scaphander lignarius*		×		×			×				AR			+	+	⊙									
141	*Spiratella bulimoides*	J			×							AR			+	+										
142	*Spiratella inflata*	J		×	×				×	×	×	AC	+	+	+	+							+	+		
143	*Spiratella trochiformis*				×							R	+	+	+	+							+	+		
144	*Stiliger vesiculosus*						×	×		×	×	C			□	▲	▲									Pontes d'Opisth.
145	*Spurilla neapolitana*						×		×	×	×	AC			△					△	△	△			×	*Aiptasia mutabilis*
146	*Styliola subula*			×	×					×	×	AC	+	+	+	+							+	+		
147	*Tergipes despectus*									×		AR				⊙	△									
148	*Thordisa filix*										×	RR									⊙					
149	*Thuridilla splendida*						×		×	×	×	AC			⊙	⊙		△	●		⊙		⊙		×	
150	*Trapania fusca*				×		×		×	×	×	AC	△	⊙			△				●	●	□	△		
151	*Trapania lineata*																									
152	*Trapania maculata*								×		×	RR							⊙						×	
153	*Trinchesia amoena*									×	×	AC				▲					■	●	●	●		
154	*Trinchesia coerulea*			×	×		×	×	×	×	×	CC	△	□	□	▲	▲	△	△	□	□	□	□	□	×	
155	*Trinchesia foliata*						×		×	×	×	AC	△	●		△	△				△	□	●			

	Espèces	D	R	V	T	P	55	56	57	58	59	fr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	po	Nourriture
156	*Tritonia leopardina*						×		×	×		AR			△		△									
157	*Tritonia gracilis*		×				×		×	×	×	AC	●	●		△	△	△					△			
158	*Tritonia homberghi*			×	×							AR	+	+	+								+	+		
159	*Tritonia villafranca*			×	×		×		×	×	×	AC			△	△	△		□		▲	●	△		+	
160	*Umbraculum mediteraneum*	J			×							RR					△									
161	*Volvula acuminata*				×							RR														
	Incertae sedis																									
162	*Doris lutea*		×																							
163	*Doris marmorata*		×																							
164	*Doris testudinaris*		×																							
165	*Eolidia cerentastoma*	O																								
166	*Eolidia hystri*	O J	×										+	+	+	+					+	+	+	+		
167	*Eolis flavescens*		×													+										
168	*Eolis virescens*															+						+				
169	*Facelina veranyana*																									
170	*Glossodoris pallens*			×																						
171	*Aeolidia I*								×	×																
172	*Aeolidia II*						×	×		×															×	
173	*Aeolidia III*									×	×									□	△	△			×	*Eudendrium ramosum*
174	*Glossodoris I*									×																
175	*Glossodoris II*									×	×															

7. TRAVAUX EFFECTUÉS AU LABORATOIRE DE VILLEFRANCHE AU SUJET DES OPISTHOBRANCHES

GILET, R. 1952. *Accouplement, ponte et première larve d'Aplysiella webbi* (van Beneden). Vie et Milieu, III: 412-414.

HAEFELFINGER, H. R. 1959. *Remarques sur le développement de quelques Glossodoridiens (Mollusques opisthobranches).* Rev. suisse Zool. 66: 309-315.

— 1960. *Beobachtungen an Polycera quadrilineata (Mollusca, Opisthobranchiata).* Rev. suisse Zool. 67: 101-116.

— 1960. *Neue und wenig bekannte Opisthobranchier der Gattungen* Trapania *und Caloria aus der Bucht von Villefranche-sur-Mer (A.-M.).* Rev. suisse Zool. 67.

— et R. A. STAMM. 1959. *Limenandra nodosa gen. et spec. nov. Un Opisthobranche nouveau de la Méditerranée.* Vie et Milieu 9: 418-422.

PORTMANN, A. 1958. *Ueber zwei wenig bekannte Ascoglossa des Mittelmeeres.* Rev. suisse Zool. 65: 405-411.

— 1958. *Bosellia mimetica (Trinchese), Opisthobranche retrouvé en Méditerranée.* Vie et Milieu 9: 74-80.

PORTMANN, A. und SANDMEIER, E. 1960. *Zur Kenntnis von Diaphorodoris (Gastr. Nudibranchiata) und ihrer mediterranenen Formen.* Verh. Nat. Ges. Basel, 71: 174.

TCHANG Si. 1931. *Contribution à l'étude des Mollusques Opisthobranches de la côte provençale.* Thèse, Lyon.

POUR LA BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE, IL FAUT CONSULTER:

HOFFMANN, H. 1932-39. *Opisthobranchia.* Teil I. In BRONN's: *Klassen und Ordnungen des Tierreiches.* Band 3: *Mollusca,* Abteilung 2: *Gasteropoda,* Buch 3: *Opisthobranchiata.* Leipzig.

POUR LA SYSTÉMATIQUE, IL FAUT CONSULTER:

PRUVOT-FOL, A. 1954. *Mollusques Opisthobranches.* Faune de France 58, Paris.

ZUSAMMENFASSUNG

Verschiedenen Forscher (Otto, Risso, Vérany, Vayssière) haben sich mit der Opisthobranchierfauno der Bucht von Villefranche und deren Umgebung befasst. Leider wurden die Funde nie gesamthaft katalogisiert. Dank der Mithilfe von Prof. G. Trégouboff, sowie einer Arbeitsgemeinschaft der Zoologischen Anstalt Basel und der Auswertung eigener Resultate, konnte ich ein ziemlich vollständiges Inventar der in Villefranche gefundenen Opisthobranchier aufstellen. Soweit als möglich wurden Fundort und Daten, sowie Anzahl der Exemplare angeführt.

SUMMARY

A comprehensive review of former works on the opisthobranch fauna of the bay of Villefranche has never yet been made. During a long period (1954-1959) I have worked on opisthobranchs and endeavoured to take stock of all the species living in this bay. As far as possible the points of finding, the dates and the number of molluscs have been mentioned. I am indebted to Prof. G. Trégouboff and to a team of Swiss Zoologists who have contributed to complete my catalogue.

Tome 67, nº 28 — Septembre 1960

Verschiedenartige synergistische Effekte zweier SH-substituierter Morphostatika (β-*Mercaptoaethanol* und 5,7-*Dimercapto-thiazolo* [5,4-d]*pyrimidin*)[1]

von

H. P. von Hahn und **F. E. Lehmann**
Zoologisches Institut der Universität Bern

Mit 3 Textabbildungen.

1. EINLEITUNG

Schwefelhaltige Proteine spielen in der lebenden Zelle eine besonders wichtige Rolle, und zwar bei der Bildung fädiger und vernetzter Strukturen im Cytoplasma, bei der Kontraktion actomyosinartiger Proteine und bei dem lokalisierten Ablauf enzymatischer Prozesse. Nimmt man noch die Rolle des Glutathions in der Zelle hinzu, so darf heute schon angenommen werden, dass die Lage des intrazellulären Gleichgewichts von Sulfhydryl (SH)- und Disulfid (S-S)- Gruppen das Verhalten strukturgebundener und gelöster Moleküle wesentlich verändern kann. Damit ist die Möglichkeit gegeben, intrazelluläre enzymatische und morphogenetische Prozesse wie die Mitose und andere Zellverformungen, ebenso wie das Wachstum des Cytoplasmas experimentell zu beeinflussen.

[1] Teilweise vorgetragen auf der Tagung der Schweiz. Zoologischen Gesellschaft in Basel, 5.—6. März 1960.

Ausgeführt mit Unterstützung des Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung. Wir danken Fräulein L. Schneider für technische Assistenz und Fräulein M. Scheuner für Hilfe bei der Ausarbeitung des Manuskripts.

Es kann nach RAPKINE und BRACHET (1951) sowie LALLIER (1951) beim Amphibienkeim die Bildung der Neuralplatte durch SH-blockierende Reagenzien gehemmt, durch SH-tragende Substanzen dagegen gefördert werden. Beim Seeigel wirken Thiomethylcytosin und Thioaepfelsäure animalisierend (GUSTAFSON und HORSTADIUS 1956, BÄCKSTROM 1958a). Der Gehalt der Seeigelkeime an freien SH-Gruppen schwankt im Verlauf der Entwicklung in bestimmten Zyklen (BÄCKSTROM 1958b, 1959). Die Einführung von β-*Mercaptoaethanol* in der Mitosephysiologie durch MAZIA (1958a, 1958b) hat zudem die Tatsache aufgedeckt, dass die Ausbildung der Faserstrukturen des mitotischen Apparates im Seeigelei durch Störung des SH-SS Gleichgewichtes reversibel blockiert werden kann. Am Amphibienkeim bewirkt Mercaptoaethanol u.a. reversible Störungen der Neurulation (BRACHET und DELANGE-CORNIL 1959).

Da verschiedene SH-haltige Verbindungen die Morphogenese beeinflussen, ergibt sich nun die Frage, ob diese Wirkungen der verschiedenen SH-tragenden Substanzen als eine typische Funktion der SH-Gruppe im Molekül zu deuten sei, d.h. ob prinzipiell alle Stoffe, die SH tragen, eine vergleichbare Wirkung haben, oder ob diese Verallgemeinerung auszuschliessen sei. Unsere Versuche sollen einen Beitrag zur Klärung dieser Frage bringen. *Am morphogenetischen Modell der regenerierenden Schwanzspitze der Xenopuslarve vergleichen wir die Wirkung des aliphatischen Mercaptoaethanols mit der einer purinanalogen Substanz mit 2 SH-Gruppen, 5,7-Dimercapto-thiazolo(5,4-d)pyrimidin.* Beide hemmen die Regeneration etwa im gleichen Konzentrationsbereich. Der Vergleich von kombinierten Wirkungen dieser zwei Substanzen im Synergismusversuch mit einer Reihe von strukturell verschiedenen Morphostatika soll erweisen, ob die beiden das gleiche Wirkungsmuster haben, oder ob nicht vielmehr jede Substanz ein besonderes Bild ergibt.

2. MATERIAL UND METHODEN

a) *Die Methode:* Die Versuchsanordnung für die Durchführung der Kombinationsprüfung von Morphostatika an der Xenopuslarve ist bereits von LEHMANN (1957a) ausführlich dargestellt worden. Gemessen wird die *Länge der regenerierten Schwanzspitze* an 25-

35 mm langen Xenopuslarven. Zu Beginn eines Versuchs amputieren wir 4 oder 5 mm der Schwanzspitze (je nach Grösse der Larven) und bringen dann je 5 Larven in 200 ml einer Lösung der zu prüfenden Substanz oder Substanzkombination. 10 Kontrollarven (ebenfalls amputiert) kommen in dest. Wasser. Für jeden Ansatz brauchen wir Larven einer einzigen Eiablage, die nicht mehr als 2 mm in der Länge auseinanderliegen. Zur Prüfung der Kombinationswirkung (Synergismus oder Antagonismus oder indifferentes Verhalten) werden die beiden Substanzen gleichzeitig einzeln und zusammen in denselben Konzentrationen angesetzt.

Abb. 1. — Strukturformeln der verwendeten synthetischen Morphostatika. Genaue Namen im Text.

b) *Die Substanzen:* Wir vergleichen die Kombinationen unserer zwei SH-substituierten Morphostatica β-*Mercaptoaethanol* und *5,7-Dimercapto-thiazolo(5,4-d)pyrimidin (E 96)* (Hahn, Prijs und Erlenmeyer 1956) mit folgenden Partnersubstanzen (genaue chemische Strukturen siehe auf dem *Formelschema*, Abb. 1):

(I) Synthetische Morphostatika:

1,2-Dihydro-3-methyl-(7)6-aethoxy-chinoxalon-(2) = Substanz 3576 der Ciba A.G. Basel

3,5-Diaethoxy-2,6-bisaethyleniminobenzochinon = Substanz 17121 der Ciba A.G. Basel

1-Isopropyl-4-amino-pyrazolo(3,4-d)pyrimidin = Substanz 18994 der Ciba A.G. Basel

4-Amino-6-methyl-heptanon-(3) Hydrochlorid = Aminoketon E 9 (Lehmann und Mitarb. 1950, 1954)

2-Amino-4-aethylmercapto-buttersäure = Aethionin

(II) Morphostatischer Naturstoff:

Colchicin

(III) Natürliche Metaboliten:

Cystein, Methionin, Adenin.

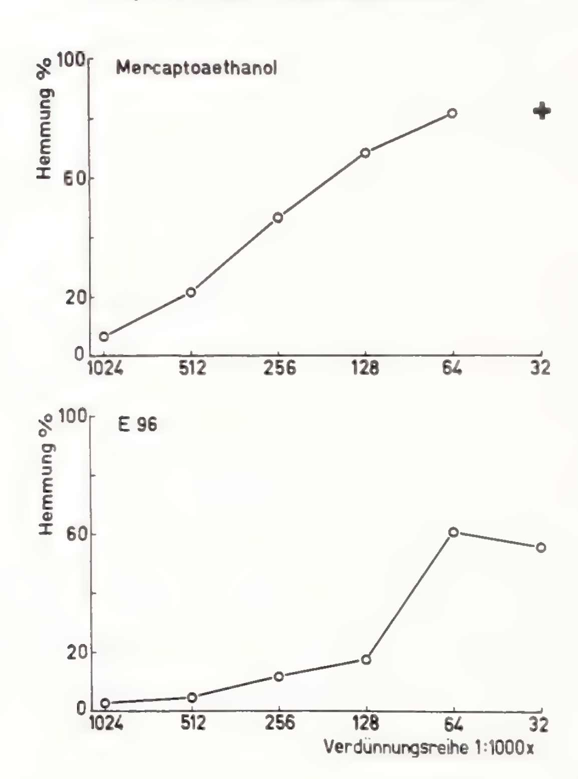


Abb. 2. — Prozentuale Hemmung der Regeneration nach 10 Tagen Dauerbehandlung mit Mercaptoaethanol und E 96. Ordinaten: Hemmung in % (Regeneration der Kontrollen = 0%, totale Hemmung = 100%). Abszissen: Konzentrationen der Versuchslösungen in logarithmischer Verdünnungsreihe.

Die angewendeten Konzentrationen sind jeweils bei den betreffenden Versuchsergebnissen in den Tabellen II, III und IV angegeben. Ueber die regenerationshemmende Wirkung der Substanzen der Gruppen (I) und (II) ist bereits ausführlich berichtet

worden (siehe z.B. LEHMANN 1957a, 1957b, 1959a, 1959b). Die Auswahl der Kombinationspartner erfolgte auf Grund ihrer starken morphostatischen Effekte und ihrer Zugehörigkeit zu sehr verschiedenen chemischen Strukturtypen.

3. RESULTATE

a) *Die Wirkung von Mercaptoaethanol und E 96 in Einzelbehandlung.*

Wie Abb. 2 an zwei Beispielen von logarithmischen Verdünnungsreihen zeigt, hemmen beide Substanzen die Regeneration etwa im gleichen Konzentrationsbereich. Die Toxicitätsgrenze für Mercaptoaethanol liegt zwischen 1:32.000 und 1:64.000, für E 96 etwas oberhalb 1:32.000. Während jedoch Mercaptoaethanol in einem sehr breiten Konzentrationsbereich bis zu 1:1 Million herunter noch deutlich morphostatisch wirkt, ist mit E 96 bei grösseren Verdünnungen als 1:100.000 kein regelmässig reproduzierbarer Effekt mehr zu erzielen. Vergleichen wir für Mercaptoaethanol die bei Xenopus wirksamen Konzentrationen mit den Angaben aus der Literatur *(Tabelle 1)*, so finden wir, dass bei unseren Versuchen sowohl die Toxicitätsgrenze wie auch der Wirkungsbereich bei 20-100 mal kleineren Werten liegen. Unser morphogenetisches Modell der regenerierenden Schwanzspitze von Xenopus scheint also *viel empfindlicher* auf diesen Hemmstoff zu reagieren als Tritonkeime (BRACHET) oder Seeigeleier (MAZIA).

TABELLE 1. — *Wirksame Konzentrationen von Mercaptoaethanol. Vergleich mit Werten aus der Literatur.*

Autor:	in Mol/l:	in g/l:	als Verdünnungszahl:
MAZIA 1958	0,075 M	5,85 g/l	1: 170
BRACHET 1958 . . .	0,00330 M	0,26 g/l	1: 3840
HAHN & LEHMANN .	0,00040 M	0,0312 g/l	1: 32000 (toxisch)
	0,00020 M	0,0156 g/l	1: 64000
	0,00005 M	0,0039 g/l	1: 256000

Untersuchungsobjekte: MAZIA: Seeigelei, BRACHET: Amphibienembryo, HAHN & LEHMANN: regenerierende Xenopuslarve.

b) *Die Wirkung von Mercaptoaethanol und E 96 bei zeitlich verkürzter Behandlung* (Abb. 3).

Nach unseren früheren Untersuchungen (Lehmann 1957a) kann der Angriffspunkt einer morphostatischen Substanz zeitlich genauer umschrieben werden, wenn die Behandlung der Regenerate auf eine bestimmt verkurzte Einwirkungsphase reduziert wird. Bei *unterbrochener (u)* Behandlung werden die Versuchstiere während x Stunden unmittelbar nach der Amputation in der Versuchslösung gehalten, dann in Wasser umgesetzt. Wir messen die Regenerate wie bei der Dauerbehandlung nach 10 Tagen. Hierbei werden die frische Wunde und die frühen Regenerationsvorgänge betroffen. Bei *verspäteter (v)* Behandlung kommen die Tiere nach der Amputation zunächst in Wasser, und erst nach x Stunden (dann bis zum 10. Tag) in die Versuchslösung. Man trifft hier also meist nach dem Wundverschluss die spateren Regenerationsphasen. Durch geeignete zeitliche Abstufung der *u*- und *v*-Behandlungen lassen sich spezifische *induzierte Hemmeffekte* für Früh- oder Spätphasen von *kontinuierlichen und kumulativen Dauereffekten* unterscheiden.

Für *Mercaptoaethanol* zeigt die unterbrochene Behandlung bis zu 24 Stunden Dauer keine Wirkung. Erst nach 48-stündiger Behandlung findet sich eine deutliche Hemmung. Die verspätete Behandlung zeigt dagegen, dass man noch 24 Stunden nach Amputation beginnen kann, um einen vollständigen Dauereffekt zu erhalten. Sogar wenn die Behandlung erst 120 Stunden (5 Tage) nach Amputation einsetzt, wird noch etwa die Hälfte des Daueretfektes erreicht. Mercaptoaethanol ist also nicht wirksam in den frühen Phasen (Wundverschluss, Blastembildung), erzielt aber noch einen vollen Effekt in den *späteren Stadien* der Blastembildung und des Wachstums des Regenerates.

Bei *E 96* ergibt die unterbrochene Behandlung eine deutlich empfindliche Frühphase bis etwa 6-8 Stunden nach Amputation, auch die verspätete Behandlung lässt diese sensible Phase erkennen. Es scheint ihr eine weitere zwischen 24 und 48 Stunden zu folgen. Ganz im Gegensatz zu Mercaptoaethanol führt der um 120 Stunden verspätete Behandlungsbeginn keinerlei Hemmwirkung herbei. Bei *E 96* liegen also *phasenspezifische Früheffekte* vor. Darauf scheint möglicherweise auch der Rückgang

des Hemmeffektes bei Verlängerung der Behandlung von 120 auf 240 Stunden (= Dauerbehandlung) zu deuten. Die Periode vom 5.—10. Tag entspricht der Phase des raschen Längenwachstums der Chorda im unbehandelten Regenerat. Ein Zurückgehen des anfänglichen Hemmeffektes bei andauernder Behandlung könnte von einer metabolischen Adaptation der sich differenzierenden Gewebe, z.B. durch besondere induzierte Enzymsysteme der Differenzierungsphase, herrühren.

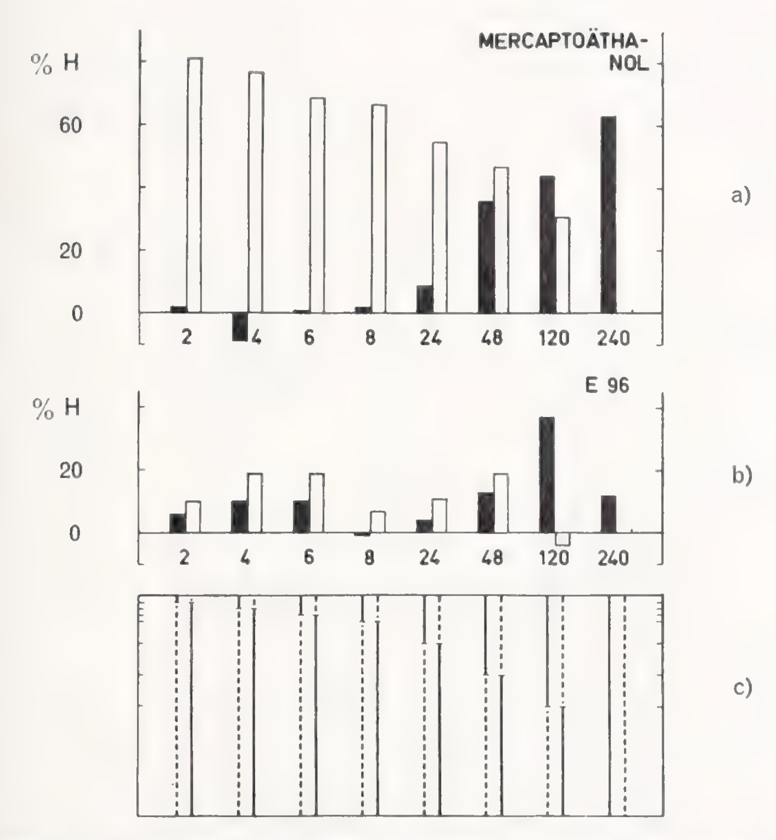


Abb. 3. — Prozentuale Hemmung der Regeneration nach 10 Tagen bei zeitlich verkürzter Behandlung mit Mercaptoaethanol 1: 32.000 und E 96 1: 40.000. *a)* Mercaptoaethanol, und *b)* E 96: Die Säulen stellen die %-Hemmwerte (%H) nach 10 Tagen dar: ▬ nach X Stunden unterbrochene Behandlung, ▭ = um X Stunden verspätet einsetzende Behandlung. *c)* Darstellung der zu den Säulen in *a)* und *b)* gehörenden Behandlungsperioden, zur Veranschaulichung der Dauer der „unterbrochenen" und „verspäteten" Behandlung: ——— = Behandlung, . . . = Tiere in Wasser (Ordinate, in Stunden).

c) *Die Kombination von Mercaptoaethanol mit E 96.*

Kombinierte Behandlung mit *Mercaptoaethanol + E 96* führte in allen Fällen zu einer starken Verminderung des morphostatischen Effektes *(Tabelle 2)*. In einigen Versuchen wurden mit der Kombination prozentuale Hemmwerte gemessen, die niedriger als die der beiden, gleichzeitig mitgeführten Einzelbehandlungen waren (siehe z.B. *Tabelle 2*, Zeilen 2 und 6), und bis zur vollständigen Aufhebung der Regenerationshemmung führten. Man kann also von einem eigentlichen *Antagonismus* der zwei Substanzen zueinander sprechen. Schon dieser Befund illustriert in augenfälliger Weise, dass wir es hier mit zwei ganz verschiedenen Wirkungsmechanismen zu tun haben.

Tabelle 2. — *Kombinationsbehandlung mit Mercaptoaethanol+E 96. Prozentuale Hemmwerte nach 10 Tagen Behandlung.*

Mercaptoaethanol	allein % Hemmung	Kombination % Hemmung	allein % Hemmung	E 96
1: 64 T	77% 54%	31% 15%	4% 33%	1: 32 T
1: 64 T	77% 54%	32% 21%	3% 12%	1: 64 T
1: 250 T	55% 15%	16% 2%	3% 12%	1: 64 T

d) *Die Kombinationen von Mercaptoaethanol und E 96 mit den anderen Partnersubstanzen.*

In den *Tabellen 3 und 4* sind für Mercaptoaethanol und E 96 die mit den gleichen Kombinationspartnern erzielten prozentualen Hemmwerte zusammengestellt. Als *synergistisch hemmend* bezeichnen wir solche Kombinationen, bei denen die simultane („kombinierte") Behandlung regelmässig und reproduzierbar höhere Hemmwerte als der am stärksten wirkende Partner in Einzelbehandlung in gleicher Konzentration ergibt. Ein Vergleich der beiden Tabellen zeigt, dass M.ae. und E 96 *nicht* das gleiche Wir-

kungsmuster hervorbringen. Besonders deutlich ist dies bei den Kombinationen mit Colchicin (M.ae. indifferent, E 96 synergistisch), 3576 (M.ae. synergistisch, E 96 indifferent) und 18994 (M.ae. synergistisch, E 96 indifferent sogar etwas antagonistisch). Mit E 9 sind beide synergistisch, mit 17121 beide indifferent, ohne ausgeprägte Wirkung.

Die Ergebnisse der Kombinationsbehandlung mit anderen SH-tragenden Substanzen, besonders Cystein, Glutathion, und ihren Oxydationsprodukten (mit -S-S-) sollen später an Hand ausführlicher Versuchsergebnisse eingehend diskutiert werden. Hier sei nur ein erstes Ergebnis mitgeteilt, welches besonders deutlich das unterschiedliche Verhalten von M.ae. und E 96 zeigt: Cystein scheint ein starker Antagonist von E 96 zu sein (siehe *Tabelle 4*), während erste Versuche mit der Kombination M.ae. + Cystein eine Steigerung der Toxicität ergaben, welche nach wenigen Stunden bereits zum Tod aller kombinationsbehandelter Larven führte.

Die unterschiedlichen Wirkungsmuster in der Kombinationsbehandlung sprechen dafür, dass E 96 und M.ae. an zwei unabhängigen Angriffspunkten wirken. Im Falle von M.ae. sind das pteridinanaloge Chinoxalin 3576 und das purinanaloge Pyrazolopyrimidin 18994 stark synergistisch. Diese beiden Substanzen greifen vermutlich in den Purin- und Nukleinsäurestoffwechsel ein (Hahn und Lehmann 1958, Lehmann 1957a). Eine synergistische Herabsetzung des morphogenetischen Stoffwechselpotentials des Gewebes (MSP) scheint also hier durch gleichzeitige Störung des M.ae.-empfindlichen Systems und des Purinumsatzes möglich zu sein. Mit E 96, das ja selber eine purinanaloge Struktur aufweist, zeigen diese beiden Substanzen hingegen keinen Synergismus. Die Strukturverwandtschaft der Partner deutet hier möglicherweise auf benachbarte Angriffspunkte. Dies entspricht unserer Arbeitshypothese, dass nämlich eine synergistische Herabsetzung des MSP durch Kombination zweier morphostatischer Stoffe dann am ausgeprägtesten ist, wenn die zwei Partner an möglichst unabhängigen Teilsystemen des MSP angreifen (siehe Diskussion, Abschnitt 4.b, Seite 367).

Der Fall der Kombination von E 96 und M.ae. mit Colchicin liegt gerade umgekehrt. Das biochemisch noch nicht genauer definierte Angriffssystem des Colchicins gibt mit dem E 96-empfind-

lichen System eine sehr starke synergistische Regenerationshemmung: das MSP wird hier sehr klein. Mit M.ae. ist dagegen kein besonder Kombinationseffekt festzustellen.

TABELLE 3. — *Kombinationen mit Mercaptoaethanol. Prozentuale Hemmwerte nach 10 Tagen Behandlung.*

Qualifikation der Wirkung	*Merc. ae.* Konzentration	% Hemmung	*Kombination* % Hemmung	% Hemmung	*Partner*	Konzentration
indifferent	1: 64 T	76%	84%	97%	Colch.	1: 500 T
schwach syn.		76%	95%	60%		1: 1 M
	1: 250 T	15%	52%	60%		1: 1 M
stark synerg.	1: 64 T	71%	91%	78%	E 9	1: 8 T
		76%	96%	62%		1: 8 T
		71%	95%	61%		1: 16 T
	1: 96 T	66%	96%	61%		1: 12 T
	1: 250 T	12%	83%	61%		1: 16 T
		25%	74%	45%		1: 32 T
stark synerg. (bei hohen Konzentrat.)	1: 64 T	56%	100%	22%	3576	1: 100 T
		84%	99%	9%		1: 200 T
	1: 250 T	62%	65%	49%		1: 100 T
		62%	66%	9%		1: 200 T
		6%	18%	17%		1: 200 T
schwach syn.	1: 64 T	66%	82%	71%	17121	1: 8 M
		66%	66%	35%		1: 16 M
	1: 250 T	2%	39%	35%		1: 16 M
stark synerg.	1: 64 T	53%	80%	37%	18994	1: 64 T
		55%	95%	69%		1: 125 T
	1: 250 T	12%	100% (2+)	92%		1: 32 T
		12%	60%	69%		1: 125 T
		25%	64%	21%		1: 250 T
		45%	66%	8%		1: 250 T
schwach antag.	1: 64 T	77%	66%	— 14%	Adenin	1: 5 T
		77%	67%	3%		1: 10 T
	1: 250 T	46%	38%	3%		1: 10 T

TABELLE 4. — *Kombinationen mit E 96.*
Prozentuale Hemmwerte nach 10 Tagen Behandlung.

Qualifikation der Wirkung	*E 96* Konzentration	% Hemmung	*Kombination* % Hemmung	% Hemmung	*Partner* Konzentration	
stark synerg.	1: 32 T	22%	100%	93%	Colch.	1: 500 T
		11%	97%	39%		1: 500 T
		71%	98%(3+)	32%		1: 1 M
	1: 48 T	29%	81%	74%		1: 750 T
		2%	55%	32%		1: 750 T
	1: 50 T	— 19%	54%	43%		1: 500 T
		— 19%	22%	8%		1: 1 M
	1: 64 T	11%	40%	32%		1: 1 M
stark synerg.	1: 32 T	51%	toxisch	85%	E 9	1: 8 T
		51%	95%	71%		1: 32 T
	1: 48 T	— 5%	82%	65%		1: 24 T
	1: 50 T	18%	86%(2+)	67%		1: 16 T
	1: 64 T	— 7%	82%	71%		1: 32 T
indifferent	1: 50 T	— 9%	29%	36%	3576	1: 100 T
	1: 100 T	0%	42%	36%		1: 100 T
	1: 100 T	0%	11%	16%		1: 200 T
indifferent	1: 50 T	4%	53%	52%	17121	1: 8 M
etw. antag.	1: 100 T	— 7%	13%	29%		1: 16 M
indifferent	1: 32 T	19%	67%	89%	18994	1: 64 T
	1: 64 T	5%	89%	89%		1: 32 T
		5%	61%	89%		1: 64 T
schwach syn.	1: 32 T	8%	13%	15%	Aethionin	1: 4 T
		8%	22%	9%		1: 16 T
	1: 64 T	1%	22%	15%		1: 4 T
		1%	21%	9%		1: 16 T
indifferent	1: 32 T	14%	6%	0%	Methionin	1: 4 T
etw. antag.		14%	16%	— 6%		1: 16 T
indifferent	1: 50 T	18%	17%	— 18%	Adenin	1: 5 T
		18%	26%	— 5%		1: 10 T
	1: 100 T	— 7%	4%	— 5%		1: 10 T
antagonistisch	1: 32 T	12%	-38%	— 6%	Cystein	1: 32 T
	1: 64 T	15%	—8%	— 6%		1: 32 T
		15%	16%	30%		1: 64 T

Auffallend ist der starke Synergismus von Aminoketon E 9 sowohl mit E 96 wie auch mit M.ae. Dies ist bisher der einzige Fall, wo unsere beiden Substanzen gleichartige, ausgeprägte synergistische Hemmeffekte ergeben. E 9 ist nach unseren früheren Untersuchungen in vivo ein starker und langfristiger Aktivator der Kathepsine (HAHN und LEHMANN 1958, 1960). Der Befund, dass sowohl E 96 wie M.ae. mit E 9 synergistisch wirken, lässt vermuten, dass in beiden Fällen, für die wir ja auf Grund des allgemeinen Kombinationsmusters unabhängige Angriffspunkte auf das MSP annehmen, eine Steigerung der proteolytischen Aktivität auf alle Fälle zur Herabsetzung des MSP beiträgt. Es muss hier jedoch in der weiteren biochemischen Analyse abgeklärt werden, ob und wie weit M.ae. und E 96 selber auch das Kathepsinsystem beeinflussen.

4. DISKUSSION

a) *Funktion von SH-tragenden Substanzen in der Morphogenese.*

Die bisherigen Befunde über die *Wirkung von SH-tragenden Substanzen auf die Morphogenese* lassen noch keine allgemein gültigen Schlüsse über die Bedeutung von SH-Gruppen zu und sind zum Teil scheinbar widersprechend. So wirken im vegetativ-animalen Gradientensystem des Seeigeleies sowohl SH-tragende Substanzen wie Thioaepfelsäure und Thiomethylcytosin (BÄCKSTRÖM 1958a, GUSTAFSON und HORSTADIUS 1956), als auch SH-blockierende Reagenzien wie Zn^{++} (LALLIER 1955), Iodosobenzoesäure (BÄCKSTROM 1959) und SCN^{-} (LALLIER 1952, GUSTAFSON und HÖRSTADIUS 1956) animalisierend. Reduziertes Glutathion, ein natürliches SH-tragendes Tripeptid, antagonisiert dagegen die animalisierende Wirkung von Thioaepfelsäure und Thiomethylcytosin (BÄCKSTRÖM 1958a). Klarer scheinen die Dinge bei der Mitose des Seeigeleies zu liegen: Aus den Arbeiten von MAZIA (1958a, 1959b) ist zu ersehen, dass beim Aufbau der Metaphasespindel langgestreckte fibrilläre Strukturen entstehen, die wesentlich durch gerichtete Ausbildung von -S-S- Brücken zwischen Proteinmolekülen zustande kommen sollen. Durch *Mercaptoaethanol* (M.ae.) kann man die Mitose spezifisch *vor* der Metaphase blockieren. Gibt man es *nach* der Metaphase zu, so wird erst die

nächste Mitose betroffen. MAZIA führt diese Wirkung des M.ae. auf die Störung der Strukturbildung, die durch die Verschiebung des SH-SS Gleichgewichts der Zelle unter dem Einfluss der SH-Gruppen des M.ae. zustande kommt.

Dieser Schlussfolgerung, dass die Wirkung des M.ae. *einzig auf der Funktion seiner SH-Gruppe beruht*, scheinen jedoch die Befunde von RAPKINE und BRACHET (1951), LALLIER (1951), BRACHET (1958), sowie BRACHET und DELANGE-CORNIL (1959) an Amphibiengastrulae zu widersprechen. Die SH-tragenden Substanzen Cystein, Glutathion und besonders Thioaepfelsäure induzieren nämlich in Explantaten der ventralen Gastrulahälfte Neuralstrukturen, wobei speziell Cystein die Ausbildung von Chorda und Somiten blockiert. M.ae. dagegen hemmt die Bildung des Neuralrohres, ohne Chorda und Somiten zu beeinflussen. Bemerkenswert ist, dass Glutathion und Thioaepfelsäure, die beim Seeigelkeim Antagonisten sind, hier gleichsinnig wirken. Interessanterweise sind bei den entsprechenden Oxydationsprodukten die Funktionen gerade umgekehrt, also auch entgegengesetzt: oxydiertes Glutathion (G-S-S-G) hemmt die Induktion der Neuralplatte, Dithiodiglykol bewirkt starke Verdickung dieses Blastems, dies in ähnlicher Weise wie das SH-blockierende Iodacetamid (IAA).

Wir sehen schon an diesen Beispielen, dass die Hypothese einer *allgemeinen und gleichartigen Wirkung von verschiedenen SH-Substanzen* in morphogenetischen Systemen aufgegeben werden muss. Man muss vielmehr jeder von ihnen einen spezifischen Effekt zuordnen. Und dies bestätigen auch unsere Ergebnisse mit E 96 und Mercaptoaethanol. Als morphogenetisches System untersuchen wir das auf Inhibitoren empfindlich und differenziert reagierende Regenerat des Schwanzes der Xenopuslarve. M.ae. hemmt diese Regeneration sehr stark, und in einem breiten Konzentrationsbereich, E 96 in geringerem Ausmass in einem enger umgrenzten Bereich. Aber bei gleichzeitiger Anwendung hebt E 96 die hemmende Wirkung des M.ae. weitgehend auf: hier zeigt sich ein ausgeprägter *Antagonismus dieser zwei Substanzen*. Auch das differenzierte Spektrum der synergistischen Wirkung mit anderen Morphostatika zeigt anschaulich, dass wir es hier mit verschiedenen Angriffspunkten zu tun haben (siehe Seite 361). Und dies, obwohl beide Substanzen als funktionelle Gruppen SH

tragen. Hier ist nun offenbar *das ganze Molekül für die Spezifität der biologischen Wirkung verantwortlich*, nicht nur der Substituent. Es dürfte eine wesentliche Rolle spielen, ob die SH-Gruppe an einer aliphatischen Kette oder an einem Ring sitzt, und ob sich noch weitere funktionelle Gruppen am gleichen Molekül befinden. Mit solchen Überlegungen dürften auch die scheinbar widerspruchsvollen Resultate an Amphibienembryos und Seeigelkeimen zu erklären sein.

Dass aber jedenfalls der Konzentration der *natürlichen gelösten oder strukturgebundenen SH-Substanzen* in der Zelle im Verlauf der Morphogenese eine primäre, spezifische Rolle zukommt, zeigen die Untersuchungen von Rapkine am Amphibienkeim (siehe z.B. Rapkine und Brachet 1951), und die in neuester Zeit auch von Bäckström (1958b, 1959) sowie von Sakai und Dan (1959) beschriebenen zyklischen Variationen des Glutathiongehaltes im wachsenden Seeigelembryo. Hierzu gehören auch die Beobachtungen über die essentielle Rolle einer Proteindisulfidreduktase in der Zellwand von Hefezellen bei der Vorbereitung der Knospung (Nickerson und Falcone 1959, Falcone und Nickerson 1959). Dieses Enzym spaltet reduktiv -S-S- Brücken des die Zellwand bildenden Polysaccharid-Protein-Komplexes. Die dadurch „weich" gemachte Wand erlaubt dann das Austreten einer neuen Plasmaknospe. Auch die bereits erwähnten Beobachtungen von Mazia (1958a, 1958b) bestätigen die grosse Bedeutung der SH-Gruppen bei der Bildung fibrillärer Strukturen in der Mitosespindel.

Solange jedoch der genaue Zusammenhang zwischen der chemischen Struktur einer Verbindung und ihrer biologischen Funktion nicht restlos abgeklärt ist, kann man noch keine bindenden Aussagen über ihren Wirkungsmechanismus machen. Unsere eigenen Versuche mit diesen zwei SH-tragenden Substanzen sowie die hier diskutierten Beispiele aus der Literatur lassen gut erkennen, wie vorsichtig man heute noch mit Verallgemeinerungen auf diesem Gebiet sein muss.

b) *Weitere Analyse des morphogenetischen Potentials.*

Die hier dargestellten Befunde liefern weitere Information über die Eigenart chemisch hemmbarer Regenerationsvorgänge. Wir haben bereits früher die Frage aufgeworfen, wie weit die chemische Beeinflussung der *im Cytoplasma des Regenerats integrierten*

Enzymsysteme die Hauptrolle bei der Regenerationshemmung übernimmt. Wir sehen das Cytoplasma als den Träger eines morphogenetischen Stoffwechsel-Potentials (MSP) an. Der Aufbau eines morphogenetischen Grundplasma-Systems muss in jedem wachstumsfähigen Zellverband erfolgt sein, bevor die Mitosen oder die Regeneration einsetzen können. Bei der Ausbildung dieses sehr komplexen Systems spielt der Protein-Umsatz vermutlich eine zentrale Rolle. Es ist aber im Hinblick auf die Mannigfaltigkeit der in embryonalen Zellen vorhandenen Enzymsysteme zu erwarten, dass ausser den Fermenten des Protein-Umsatzes eine Reihe weiterer Enzymsysteme im MSP integriert sind. Angesichts der hohen Regulationsfähigkeit des MSP gegenüber der Ausschaltung eines einzelnen Ferment-Systems sind manchmal keine starken Effekte zu erwarten. Sobald aber das Niveau des MSP von zwei verschiedenen Angriffspunkten aus synergistisch herabgesetzt werden kann, ergeben sich, wie wir schon bei früheren Versuchen fanden, sehr starke Ausfallserscheinungen in der morphogenetischen Leistung. Unsere neuen, mit E 96 und M.ae. erzielten Befunde lassen sich ebenfalls im Sinne unserer generellen Annahme deuten.

Unsere Versuche hatten uns zuerst auf ein kathepsintragendes System geführt, das bei langfristiger Aktivierung (z.B. durch das Aminoketon E 9) das MSP stark herabsetzen kann (siehe bei Hahn und Lehmann 1958, 1960). Ein zweites System ist wahrscheinlich mit dem Purinumsatz verknüpft, und z.B. durch das Chinoxalinderivat 3576 hemmbar. Ein drittes, biochemisch noch nicht weiter charakterisiertes System wird durch Colchicin beeinflusst. Der Synergismus, der bei gleichzeitiger Behandlung mit je zweien dieser Substanzen auftritt, lässt die parallele Blockierung relativ unabhängiger Systeme vermuten. Die hier gezeigten Reaktionsmuster von E 96 und M.ae. mit diesen Partnersubstanzen lassen es wahrscheinlich erscheinen, dass sie in verschiedenen Teilsystemen wirksam sind. Dies wird auch durch den Antagonismus zwischen ihnen nahegelegt.

Die weitere biochemische Analyse der Effekte unserer beiden Stoffe wird zeigen, welche Enzymsysteme besonders betroffen werden. Von grossem Interesse ist ihre Wirkung auf das Kathepsinsystem, das nach verschiedenen Autoren durch SH-Träger wie Cystein und Glutathion aktiviert werden kann. Die gegensätzliche

Reaktion von E 96 und M.ae. mit Cystein, wie sie unsere ersten Versuche gezeigt haben, lässt erwarten, dass die verglichenen Stoffe sich auch durch ihre Wirkung auf das Kathepsin differenzieren lassen. Eine eingehendere Erörterung der Bedeutung und Beeinflussbarkeit der verschiedenen am MSP beteiligten Faktoren ist jetzt noch verfrüht. Doch scheint die integrierte Leistung verschiedener Enzymsysteme im Dienste der Formbildung bei regenerierenden Blastemen eine weiterhin verwertbare Arbeitshypothese zu sein.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Intrazelluläre Sulphydrylverbindungen spielen in der Morphogenese und der Mitose eine wichtige Rolle bei der Ausbildung von fibrillären Proteinstrukturen. Die Lage des Gleichgewichtes zwischen SH-Gruppen und -S-S-Brücken kann durch zellfremde SH-tragende Substanzen verschoben werden und so Störungen der Morphogenese bedingen. Doch zeigten verschiedene SH-Substanzen in den bisherigen Untersuchungen sehr unterschiedliche, teilweise sogar entgegengesetzte Wirkungen.

2. Am morphogenetischen Modell des regenerierenden Schwanzes der Xenopuslarve vergleichen wir die Wirkungsmuster des aliphatischen β-Mercaptoaethanols (M. ae.) und des purinanalogen 5,7-Dimercaptothiazolo(5,4-d)pyrimidins (E 96). Beide sind regenerationshemmend, wobei M. ae. stärker als E 96 wirksam ist.

3. Bei gleichzeitiger Behandlung mit M.ae. hebt E 96 dessen morphostatische Wirkung teilweise auf: antagonistisches Verhalten der zwei Substanzen zueinander. Bei zeitlich verkürzter Behandlung (unterbrochen oder verspätet) zeigt M.ae. hemmende Wirkung in den Spätphasen der Regeneration, während E 96 mehr die frühen Phasen trifft. Auch in der Kombinationsbehandlung mit einer Reihe von Morphostatika verschiedenster chemischer Struktur zeigen M.ae. und E 96 ein unterschiedliches und charakteristisches Muster von Synergismus und Antagonismus.

4. Diese Resultate ergeben, dass man nicht zum vorneherein für alle SH-tragenden Substanzen ein gleiches Wirkungsmuster annehmen kann. In unserem Falle lassen M.ae. und E 96 verschiedene, spezifische Angriffspunkte auf das morphogenetische Potential des regenerierenden Gewebes vermuten.

SUMMARY

1. Intracellular sulphydryl compounds play an important role during morphogenesis and mitosis in the formation of fibrillar protein structures. The equilibrium between SH-groups and S-S bridges can be shifted by synthetic SH-containing substances, resulting in inhibition or disturbance of morphogenesis. But widely differing, even opposite effects have been reported for different SH-compounds.

2. Using the regenerating tail tip of Xenopus larvae as morphogenetic model we have compared the effects of the aliphatic β-mercaptoethanol (M.E.) and the purine analog 5,7-dimercapto-thiazolo-(5,4-d)pyrimidine (E 96). Both inhibit regeneration, M.E. being the stronger agent.

3. When E 96 is used simultaneously with M.E., it reduces the morphostatic effect of that substance: the two agents seem to be antagonists. When treatment is limited to a definite short period („ interrupted " or „ delayed " treatment), M.E. shows specific effects in the late phases of regeneration, while E 96 seems to act in the earlier phases. In combination with several morphostatic substances of widely varying chemical structure, M.E. and E 96 show different and specific patterns of synergism and antagonism.

4. These results demonstrate that it is not possible to postulate a general and similar pattern of biological effects for all SH-compounds. In our example, M.E. and E 96 seem to indicate separate and characteristic points of attack on the morphogenetic potential of the regenerating tissue.

LITERATUR

Bäckstrom S. 1958a. *The inhibitory effect of glutathione on some processes of animalization.* Exp. Cell Res. 14: 426-429.

— 1958b. *Glutathione in aging sperm and developing eggs of the sea urchin.* Arkiv. Zool. 11: 441-446.

— 1959. *Studies on sulphydryl-containing substances in sea urchin embryos of various developmental trends.* Exp. Cell Res.. 16: 165-173.

BRACHET, J. 1958. *Effects of β-mercaptoethanol on morphogenesis in amphibian eggs.* Nature, 181: 1736-1737.

— et DELANGE-CORNIL, M. 1959. *Recherches sur le rôle des groupes sulfhydriles dans la morphogénèse.* Dev. Biol., 1: 79-100.

FALCONE, G. and NICKERSON, W. J. 1959. *Enzymatic reactions involved in cellular division of microorganisms.* " *Biochemistry of Morphogenesis* ", ed. W. J. NICKERSON, 65-70, Pergamon Press.

GUSTAFSON, T. und HÖRSTADIUS, S. 1956. *2-Thio-5-methylcytosine, an animalizing agent.* Zool. Anzeiger, 156: 102-106.

v. HAHN, H. P. und LEHMANN, F. E. 1958. *Die Veränderung der Kathepsinaktivität im regenerierenden Schwanz der Xenopuslarve unter dem Einfluss morphostatischer Hemmstoffe.* Helv. Physiol. Acta, 16: 107-126.

— und LEHMANN, F. E. 1960. *Beeinflussung von Kathepsinaktivität und Regenerationsleistung durch morphostatische Hemmstoffkombinationen.* Helv. Physiol. Acta, 18: 198-218

— PRIJS, B. und ERLENMEYER, H. 1956. *Über einige Thiazolo-(5,4-d)pyrimidine.* Helv. Chim. Acta, 39: 341-347.

LALLIER, R. 1951. *Recherches sur le rôle des groupes sulfhydriles dans la morphogénèse. II. Effet de quelques agents oxydants et réducteurs sur le développement d'explantats dorsaux et ventraux de jeunes gastrulas d'Amphibien.* Bull. Soc. Chim. Biol. 33: 439-446.

— 1952. *Recherches sur le problème de la détermination chez les Echinodermes.* Experientia, 8: 271.

— 1955. *Animalisation de l'œuf d'oursin par les sels de Zn et de Cd.* Exp. Cell Res., 8: 230-231.

LEHMANN, F. E. 1957a. *Synergistische und antagonistische Hemmstoffkombinationen bei der Schwanzregeneration der Xenopuslarve.* Helv. Physiol. Acta, 15: 431-443.

— 1957b. *Die Schwanzregeneration der Xenopuslarve unter dem Einfluss phasenspezifischer Hemmstoffe.* Rev. suisse Zool., 64: 533-546.

— 1959a. *Selektive Totalhemmung des Regenerationswachstums durch Paare morphostatischer Stoffe.* Oncologia, 12: 110-119.

— 1959b. *Chemisch gehemmtes Wachstum von Regeneraten und Tumoren und die Dynamik gewebseigener Proteasen.* Verh. Natf. Ges. Basel, 70: 45-80.

— BRETSCHER, A., KÜHNE, H., SORKIN, E., ERNE, M. und ERLENMEYER, H. 1950. *Über die chemischen und biologischen Eigenschaften einiger α-Aminoketone.* Helv. Chim. Acta, 33: 1217-1226.

— WEBER, R., AEBI, H., BÄUMLER, J. und ERLENMEYER, H. 1954. *Versuche zur Kennzeichnung regenerationshemmender Lösungen von α-Aminoketonen.* Helv. Physiol. Acta, 12: 147-180.

Mazia, D. 1958a. *SH compounds in mitosis. I. The action of mercaptoethanol on the eggs of the sand dollar Dendraster excentricus.* Exp. Cell Res., 14: 486-494.

— 1958b. *SH compounds in mitosis. II. The effect of mercaptoethanol on the structure of the mitotic apparatus in sea urchin eggs.* Exp. Cell Res., 15: 138-153.

— 1959a. *Cell division.* Harvey Lectures, 53: 130-170.

— 1959b. *The role of thiol groups in the structure and function of the mitotic apparatus.* " Sulfur in Proteins ", Chapter VII, 1: 367-390, Acad. Press, Publ., New York.

Nickerson, W. J. and Falcone, G. 1959. *Function of proteindisulfide reductase in cellular division of yeasts.* " Sulfur in Proteins ", Chapter VII, 3: 409-423, Acad. Press, Publ. New York.

Rapkine, L. et Brachet, J. 1951. *Recherches sur le rôle des groupes sulfhydriles dans la morphogénèse. I. Action des inhibiteurs des groupes SH sur l'œuf entier et sur les explantats dorsaux et ventraux chez les Amphibiens. Implantation de protéines sulfhydrilées.* Bull. Soc. Chim. Biol., 33: 427-438.

Sakai, H. and Dan, K. 1959. *Studies on sulfhydryl groups during cell division of sea urchin egg. I. Glutathione.* Exp. Cell Res., 16: 24-41.

Tome 67, nº 29 — Septembre 1960

Comparative Anatomical Investigations on the Central Nervous System of Rodents, and Relationships between Brain Form and Taxonomy

by

G. PILLERI, M.D.

Brain Research Institute, University of Berne, Waldau/Berne (Switzerland)

With 6 figures

INTRODUCTION

One of the important tasks of comparative neuro-anatomical research is to determine the degree of *anagenesis* (Rensch) i.e. the degree of development of the brain of an animal species. Using this approach, the system is of minor importance, as species which are widely separated from the systematic standpoint often reach the same level of cerebral differentiation, and on the other hand, closely related species can exhibit considerable differences in the development of the brain, or of many of its parts.

A second approach is to determine whether relationships exist between brain form and systematics of a mammalian group, i.e. whether a taxonomical value can be ascribed to the brain, as it is to the skeleton and other organs. This approach has never been fully exploited by either mammalogists or brain anatomists.

a) Central Nervous Differentiation

Grünthal (1933) in studying mammalian brains, was the first to notice that with increasing development of the cerebral cortex the hypothalamus undergoes a corresponding reduction. In order

to better visualize this relationship, GRÜNTHAL introduced the quotient:

$$\frac{\textit{Length of Hypothalamus}}{\textit{Length of Cerebrum}}$$

and found a gradual decrease in this quotient in the phylogenetic series from primitive mammals to primates and man. The index

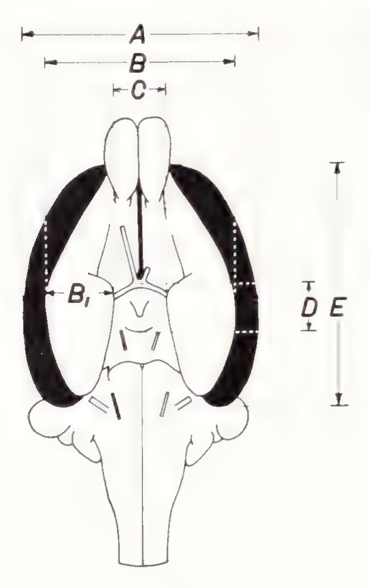


FIG. 1.

Schematic of the base of a rodent brain for the calculation of the *Hypothalamus-* and *Palaeo-Neocortex-Index:* A = width of Cerebrum, B = Distance between the Fissurae rhinales, C = minimum distance between the Lobi piriformes, B_1 = width the Palaeocortex, D = length of Hypothalamus, E = length of Cerebrum.

(Fig. 1) is obtained by measuring accurately the distance between the frontal and the occipital pole *(Length of cerebrum)* and between the anterior border of the Chiasma opticum and the caudal end of the Corpus mammillare *(Length of hypothalamus).*

Here are a few examples of such index determinations on various species of the suborder *Sciuromorpha:*

Tamiscus Emini	0,40
Perognathus parvus	0,33
Ratufa indica	0,32

Citellus citellus	0,32
Tamiasciurus hudsonicus	0,30
Marmota monax	0,30
Protoxerus stangeri	0,29
Tamias striatus	0,29
Marmota flaviventris	0,28
Marmota marmota	0,27-0,28
Sciurus niger	0,28
Castor canadensis	0,20-0,24

The greatest degree of neopallial differentiation is exhibited by *Castor canadensis*, as was to be expected from ethological observations. A second method is to determine quantitative relationships between the phylogenetically old palaeocortex and the neocortex. For this purpose, a quotient was developed for macroscopic specimens (PILLERI, Acta zoolog. *XL*, 1959) which defines palaeo-neocortical relationships on the base of the brain (relationship between *width of palaeocortex and width of palaeocortex + width of basal neocortex)*. This quotient, as seen in Figure 1, is:

$$\frac{B_1}{B_1 + \frac{A - B}{2}} .$$

With this index also, we can classify species according to the degree of neopallial differentiation. Here are a few examples of palaeo-neocortical index measurements on the brains of *Hystricomorpha* (see also Fig. 2, 3):

Atherurus africanus	0,96
Erethizon dorsatum	0,84
Hystrix javanicus	0,81
Chinchilla laniger	0,80
Hystrix cristata	0,76
Choeromys harrisoni	0,78
Cavia porcellus	0,78
Cuniculus paca	0,74
Dasyprocta aguti	0,71
Lagostomus viscacia	0,68
Dolichotis patagona	0,54
Hydrochoerus hydrochaeris	0,52

The extent of cerebellar differentiation can be more easily determined insofar as it corresponds to the degree of lamellation, (number of Folia), in the individual parts. Four species of *Sciuromorpha* with increasing cerebellar differentiation are represented in Fig. 4.

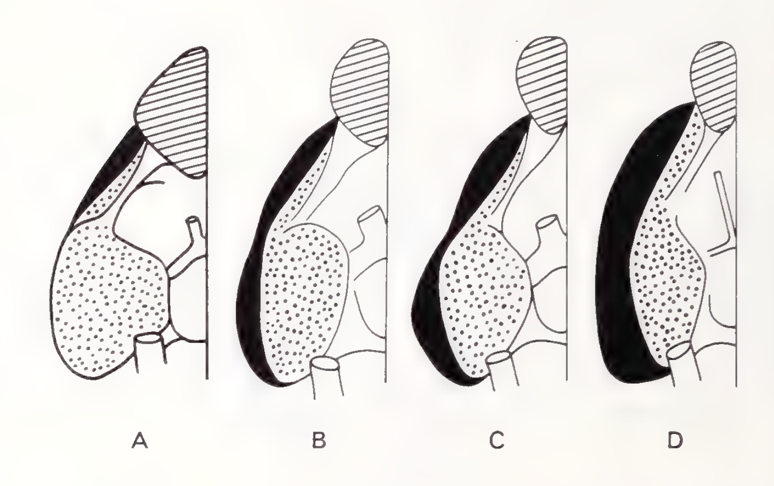


Fig. 2.

Examples of palaeo-neocortical relationships on the base of the brain: *A* = *Perognathus parvus*, *B* = *Citellus tridecemlineatus*, *C* = *Tamias striatus*, *D* = *Castor canadensis*. (All brains drawn to the same scale.)

b) Brain Form and Systematic

In the comparative-anatomical investigation of a large series of mammalian brains, one aspect of interest is the relationship between brain form and the systematic units of an order. Does the system find expression through special morphological characteristics, in the central nervous system, as it does in the skeleton and in the viscera ? Is the brain form related to general or species, or is it unaffected by minor systematic units. The question of a taxonomy of the brain is nothing new (Geoffroy Saint-Hilaire, cited by Dareste), but it is seldom brought up. On the one hand, the zoologist who is interested in systematics rarely devotes himself to the brain, and on the other hand, the brain anatomist often neglects

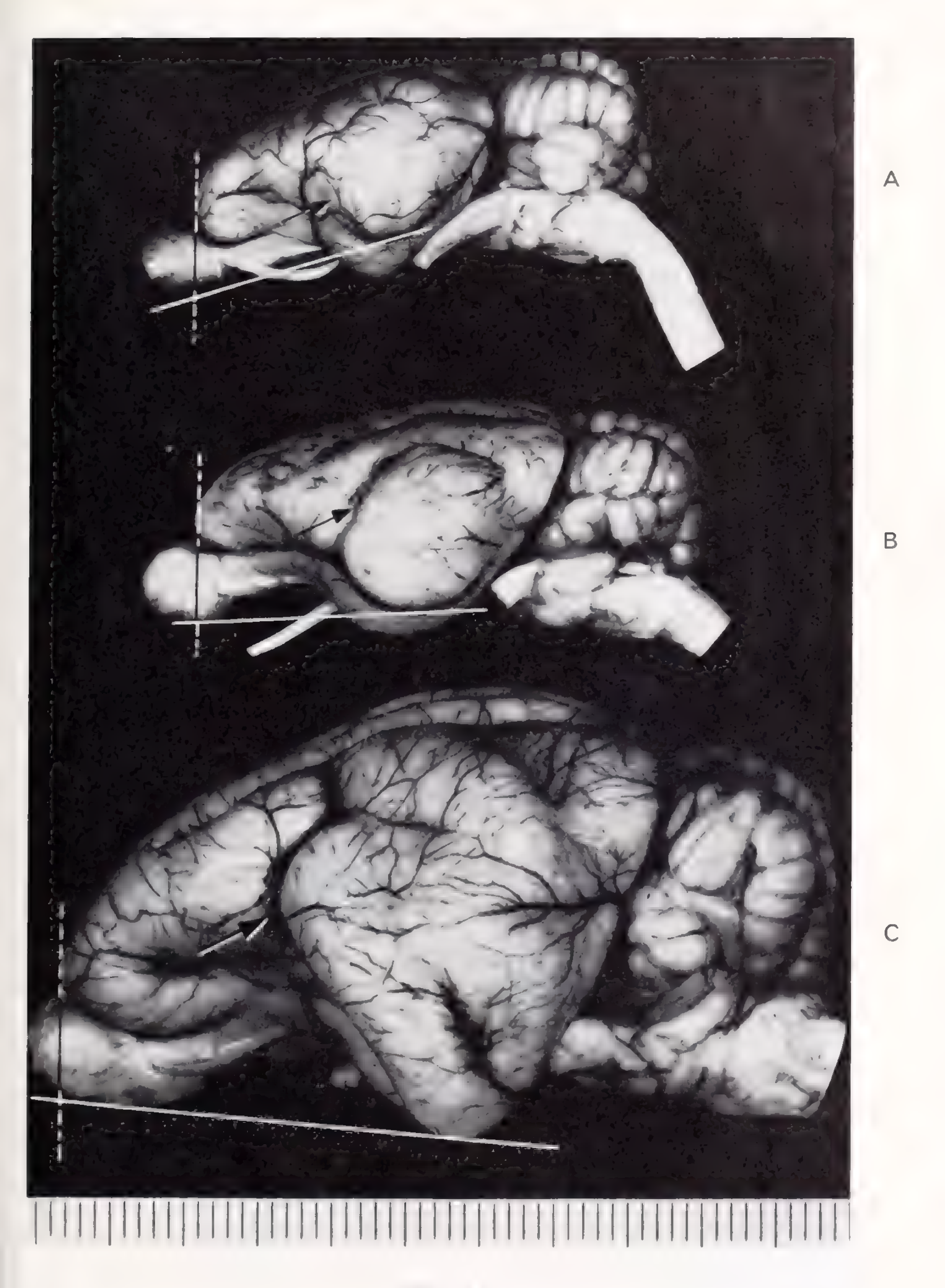


Fig. 3.

Palaeo-neocortical relationships on the lateral surface of the brain: A = *Chinchilla laniger*, B = *Cavia porcellus*, C = *Dolichotis patagona* (The arrow points to the position of the Fissura Sylvii).

systematics, or if he is acquainted with the systematics of the group upon which he is working, seldom has at his disposal the material necessary to work out a problem of this nature. In the study of

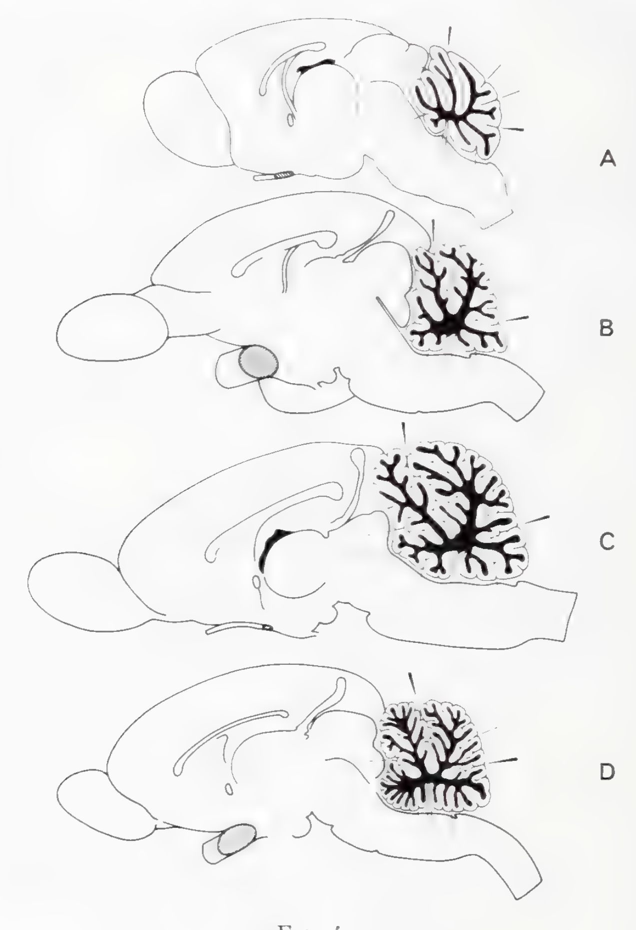


Fig. 4.

Increasing cerebellar differentiation in:
A = *Perognathus parvus*, *B* = *Citellus tredecimilineatus*, *C* = *Aplodontia rufa*, *D* = *Sciurus niger*.

the *Rodentia*, we are met by an unexpected diversity of cerebral forms. The natural system of the rodents, in contrast to that of other groups, needs revision in many points. The old division into three suborders, *Sciuromorpha*, *Myomorpha*, and *Hystricomorpha*

(BRANDT 1855), also seems to be untenable since WOOD (1955) was able to demonstrate that the *Sciuromorpha* and *Hystricomorpha* do not represent natural groups. Proceeding from palaeontological findings, WOOD comes to the conclusion that the group specific characteristics of the rodents arose independently.

In view of this provisional status of rodent systematics, and the exent of our material, we will limit ourselves to the description of brain characteristics the *Sciuromorpha* the families, which are systematically better defined, but which have not been neuro-anatomically investigated.

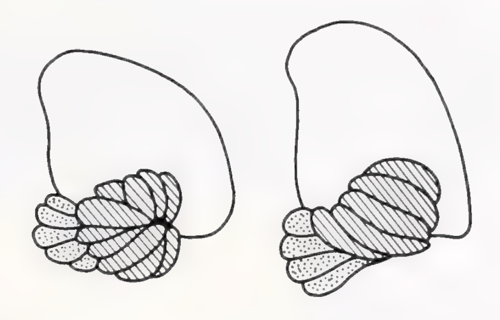


FIG. 5.
Radial and parallel arrangement of the Folia in the paraflocculus (hatched) of the cerebellum (the flocculus is stippled).

According to the classification of SIMPSON (1945), the *Sciuromorpha* comprise the following families:

Aplodontidae
Sciuridae
Geomyidae
Heteromyidae
Castoridae
Anomaluridae } *Sciuromorpha incertae sedis*
Pedetidae }

Aplodontidae: this family has only one representative, *Aplodontia rufa* RAFINESQUE, which is considered the most primitive living rodent. In this species, the cerebral hemispheres are wider caudally

and converge anteriorly forming a triangle. The Bulbi olfactorii are not especially large, which is in conformance with expectations for a very primitive animal. The hypothalamus is strikingly wide, and the basal part of the neocortex is rather small. The Nervus opticus is greatly reduced in caliber. The cerebellum exhibits a configuration which is atypical for *Sciuromorpha*. It is more compact, the Sulcus paramedianus is less distinct, and the Paraflocculi exhibit moderate projections and lie latero-oral on the cerebellar hemispheres. The cerebellum is barely covered by the cerebral hemispheres, but the Corpora quadrigemina are nonetheless invisible from the dorsal aspect.

Sciuridae: the cerebral hemispheres are, for the most part, more rounded laterally and cover the cerebellum more completely. The hypothalamus is narrower than in the *Aplodontidae*. The optic nerves are well developed (Fig 6 C). The cerebellum is more extended in the frontal direction, and the boundaries between the individual parts are more clearly recognizable. The Sulcus paramedianus is quite distinct, the paraflocculi are on short stalks, and in most species project latero-caudally. The neopallium is lissencephalic, with only a few *Marmota*-species exhibiting a longitudinal groove homologous to the Sulcus lateralis, on the dorsal surface of the cerebral hemispheres.

Geomyidae: We have not yet investigated any of this species, but the brain of *Geomys bursarius* was very carefully described by Herrick (1892). The Neopallium is less well developed than in the *Sciuridae* and *Castoridae* (see below) and the form of the cerebral hemispheres is similar to that of *Heteromyidae* and *Aplodontidae*. The broad Hypothalamus and the narrow optic nerve of *Geomys* are also missing in *Sciuridae*. The cerebellum is more simply constructed than in *Sciuridae*. Compared to the cerebrum, it is narrower, and the Sulcus paramedianus is superficial and the Crura not so pronounced.

Heteromydae: the brain does not exhibit a Fissura rhinalis as the macroscopic border between Neopallium and Palaeopallium. The optic system is rather weakly developed, the rhinencephalic structures, on the other hand, being rather well developed. The Lamina quadrigemina is completely exposed. The cerebellum is constructed simply, and is subdivided by rather primitive sulci.





A



B

C

Fig. 6.

A = Dorsal aspect of the brain of *Castor canadensis*, *B* = lateral aspect of the brain of *Anomalurus pusillus* (the arrows indicate the lateral impressions on the Cerebrum), *C* = basal aspect of the brain of *Sciurus niger*

Castoridae: the beavers are characterized by a high degree of central nervous differentiation. The Neocortex especially (Fig. 6 A) attains its greatest degree of development among the *Sciuromorpha* in Castor. A distinct, although short, Sulcus lateralis is found on the dorsal surface of the cerebral hemispheres. A short Fissura intrapiriformis is found in the region of the Lobus piriformis; the Cerebellum is strongly lamellated, and the Paraflocculi are very distinct. The ventricles are strikingly wide, and the optic nerves narrow. A long Pars oralis tuberis and a relatively short, thick Corpus callosum can be considered as phylogenetically old characteristics.

Anomaluridae: the brain is characterized by unusual impressions from the endocranium, situated on the latero-basal surface Table 1 of the cerebral hemispheres in front of the cerebellum (Fig. 6 B). These impressions are more distinct in *Anomaluridae* than in any other member of the *Sciuromorpha.* In all other respects, the brain is similar to that of *Sciuridae.*

Pedetidae: the brain of *Pedetes caffer* which have not personally investigated, but which has been described in detail by Dräseke shows unmistakable relationships to the *Hystricomorpha.* The Bulbi olfactorii are, to a great extent, covered by the frontal pole. The Neopallium is strongly developed and has the characteristic form of the *Caviodea.*

Temporally, the Neocortex is well developed with a tendency towards formation of a neocortical temporal pole, recalling the genus *Dolichotis* (Pilleri: Acta zool., *XL,* 1959). Furthermore, the Neopallium has a distinct Sulcus lateralis interrupted in the middle, and other small sulci are found on the lateral hemisphere surfaces. The difficulty in classifying the Pedetidae in the *Sciuromorpha*, becomes obvious when one considers the overall picture of the brain structures.

The most important aspects of the cerebral morphological characteristics of the various families have thus been presented. One receives the impression that a taxonomic value can be assigned to the cerebral structures. It is also not difficult to arrange the brain characteristics in the form of a dichotomic table, for the determination of a Family:

A Tectum covered, Cerebellum well differentiated, Vermis cerebelli subdivided into more than 10 Folia, Palaeo-Neocortex Index under 1,0 . . . . *B*

A_1 Tectum opticum not covered, Cerebellum primitively constructed (Fig. 4), Vermis cerebelli subdivided into 10 Folia, Palaeo-Neocortex Index = 1,0 . . . . *Heteromyidae*

B Nervus opticus thin to threadlike . . . . *C*

B_1 Nervus opticus of normal caliber . . . . *E*

C Sulcus paramedianus very distinct, Paraflocculi project more strongly . . . . *Castoridae*

C_1 Sulcus Paramedianus less distinct, Paraflocculi less strongly projected . . . . *D*

D Nervi optici threadlike (caliber under 1 mm), Hypothalamus quotient around 0,26 . . . . *Aplodontidae*

D_1 Nervi optici thicker than 0,5 mm. Hypothalamus quotient greather than 0,26 . . . . *Geomyidae*

E Dorsal surface of the cerebrum smooth . . . . *F*

E_1 Dorsal surface of the Neopallium marked longitudinally by a Sulcus lateralis, temporal Neocortex well developed *Pedetidae*

F Latero-basal surface of the Cerebrum regularly smooth and tounded . . . . *Sciuridae*

F_1 Latero-basal surface of the Cerebrum exhibits several intentations (Fig. 6 B) . . . . *Anomaluridae*

This procedure can be applied to the *Sciuromorpha.* With the *Hystricomorpha*, a procedure of this nature is even more favorable because of the greater diversity of the brain with its sulcated Neopallium (*Dolichotis, Hydrochoerus, Lagostomus, Cuniculus, Dasyprocta*, etc.). If it is possible to characterize families according to brain structure, then the second question arises, whether the genera within a family, can be classified according to cerebral morphology. According to SIMPSON (1945) the *Sciuromorpha* are subdivided into 60 genera. It will require considerable time to analyse material of this extent from the standpoint of brain anatomy, and it is beyond the scope of any single investigator. If we select from our

material six genera of nearctic *Sciuromorpha* as an exemple, a dichotomic grouping is quite possible:

A	Hypothalamus index greater than 0,24, Dorsal surface of the Neopallium smooth	B
A_1	Hypothalamus index less than 0,24, short Sulcus lateralis on the dorsal surface of the Neopallium	*Castor*
B	Animals with higher cerebralization (Brain weight: body weight = 1:30	C
B_1	Animals with lower cerebralisation (Brain weight: body weight greater than = 1:30	C
C	Radial arrangement of the lamellae in the Paraflocculus around a caudally directed Hilus (Fig. 5)	D
C_1	Diagonal-parallel arrangement of the lamellae in the Paraflocculus (Fig. 5)	*Citellus*
D	Neopallium strongly convex in fronto-dorsal profile	*Tamiasciurus*
D_1	Neopallium flatter in profile	*Tamias*
E	Radial arrangement of the lamellae in the Paraflocculus around a caudally directed Hilus (Fig. 5)	*Sciurus*
E_1	Diagonal parallel arrangement of the lamellae in the Paraflocculus with out Hilus formation (Fig. 5) . . .	*Marmota*

Through the analysis of the brain, moreover, it is probably possible to carry out a separation of the species within a genus as is shown in the following example from the genus *Marmota*:

A	Neopallium has a short, parasagittal Sulcus lateralis on the dorsal surface	B
A_1	Neopallium smooth	*monax*
B	Paraflocculus and Flocculus each consisting of 8 Folia	*flaviventris*
B_1	Paraflocculus consisting of 9, Flocculus of 6 Folia .	*marmota*

It should be emphasized that this classification table concerns only three species, one palearctic, and two nearctic. It is merely

intended to point aut, by means of a few examples, the theoretical possibility of a relationship between brain form and systematics, a relationship the practical value of whitch should not be left out of consideration in the special case of rodent groups whose systematic position is still critical. A system of the *Rodentia*, built only on cerebral morphological characteristics, would not win many followers among the zoologists, merely from the consideration of the preparatory difficulties involved.

A taxonomy striving to meet the requirements of modern biology should, aside from the practical value of the determination of animal forms, rather reflect the picture of the natural system. In the course of our investigation, the brain often proved itself a fine indicator of phylogenetic relationship within many forms whose position in the system was critical.

SUMMARY

A few Methods are described for the determination of the degree of development in rodent brain. Relationships between brain form and systematics in the Rodentia have been examined, and useful taxonomic characteristics in the brain have been defined.

LITERATURE

Brandt, J. F. 1855. *Beitrage zur naheren Kenntnis der Saugetiere Russlands.* Mem. math. phys. natur. K. Akad. Wiss. St. Petersburg 7.

Dareste, C. 1855. *Troisième mémoire sur les circonvolutions du cerveau chez les mammifères.* Ann. Sci. natur., Zool. 4e Sér. *3*: 65-111.

— 1852. *Mémoire sur les circonvolutions du cerveau chez les mammifères.* Ann. Sci. nat., Zool., 3o Sér. Zool. *1*: 34-54.

Dräseke, J. 1929. *Gehirn und Schadel von Pedetes caffer (Pall.).* Morph. Jb. Pag. 39-57.

Geoffroy Saint-Hilaire, Is. 1855. Cit. Dareste.

Grünthal, E. 1933. *Über das spezifisch Menschliche im Hypothalamusbau.* J. Psychol. Neurol. *45*: 237-258.

Herrick, J. C. 1892. *Studies in the topography of the rodent brain: Erethyzon dorsatum and Geomys bursarius.* Bull. Sci. Lab. Denison University *6*: 26-46.

PILLERI, G. 1959. *Beiträge zur vergleichenden Morphologie des Nagetiergehirnes.* Acta anatom. Suppl. 38, pages 1-124.

SIMPSON, G. G. 1945. *The principles of classification and a classification of mammals.* Bull. Americ. Mus. Nat. Hist. *85*: 1-350.

WOOD, A. 1955. *A revised classification of the Rodents.* J. Mammalogy *36*: 165-187.

Tome 67, nº 30 — septembre 1960

Laboratoire de Zoologie et d'Anatomie comparée de l'Université de Genève
Directeur : Professeur Dr E. Guyénot.

La masculinisation paradoxale de la femelle de Cobaye par les gonadotropines choriales[1]

par

Doris-Evelyne ROSENBUSCH-WEIHS

(avec 13 tableaux et 34 figures)

Qu'il me soit permis ici d'exprimer ma profonde gratitude pour la bienveillance que m'a témoignée mon maître, M. le professeur E. Guyénot, directeur de l'Institut de Zoologie et d'Anatomie comparée et de la Station de Zoologie expérimentale à l'Université de Genève, tout au long de mon travail, accompli dans ses laboratoires entre 1953 et 1957.

J'ai essayé, en rédigeant ma thèse, de m'inspirer de ce qui a fait l'admiration de tous ses élèves: sa pensée scientifique, sa clarté d'esprit et sa concision.

Je tiens à remercier tout particulièrement Mlle K. Ponse, professeur d'Endocrinologie à la Faculté des Sciences, à Genève, qui m'a proposé le sujet et assuré sa direction. Ses conseils judicieux, ainsi que sa grande expérience de l'histologie, m'ont été une aide fructueuse.

Que toutes les personnes qui ont collaboré à ce présent travail trouvent ici l'expression de mes remerciements:

M. le professeur J.-L. Nicod, directeur de l'Institut Anatomo-Pathologique de Lausanne, qui a bien voulu mettre à ma disposition son installation de photographie.

M. le Dr S. Neukomm, P. D., Lausanne, pour sa compréhension au moment de la rédaction.

[1] Travail exécuté et publié grâce à une subvention de la « Donation Georges et Antoine Claraz instituta et curata Johannis Schinz professoris auspiciis ».

M[lle] O. Libert, P. D., Genève, qui a suivi avec tant d'intérêt le progrès des expériences.

Toutes les laborantines et personnes attachées à la Station de Zoologie expérimentale qui ont participé aux travaux histologiques.

Une partie de cette étude a été possible grâce à une subvention du Fonds national suisse de la recherche scientifique dont bénéficiait M[lle] K. Ponse. J'adresse aussi mes remerciements au Kuratorium de la Donation Georges et Antoine Claraz qui m'a permis de bénéficier des subventions accordées à M. le professeur E. Guyénot.

Je remercie également la maison Leo (Copenhague) pour la générosité avec laquelle elle m'a fourni gracieusement les gonadotropines Physex.

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS

A l'heure actuelle, personne ne songe à mettre en doute l'existence d'un stade sexuel embryonnaire indifférencié. La différenciation sexuelle se fait à partir de ce stade possédant à la fois les ébauches des organes mâles et femelles.

Ainsi donc un être acquiert la constitution mâle par un double phénomène: d'une part l'évolution des organes mâles — par exemple du canal de Wolff — et d'autre part l'involution des ébauches femelles — par exemple du canal de Müller —. Inversement, la régression des organes mâles déjà ébauchés et le développement des organes du tractus sexuel femelle donnent finalement naissance à un animal de phénotype femelle.

L'involution des ébauches d'organes du sexe opposé ne se fait toutefois pas toujours complètement. Souvent des reliquats persistent. De plus des potentialités d'évolution restent latentes. Pour d'autres organes il n'y a pas involution, mais arrêt du développement à un certain stade. C'est ainsi qu'il faut aussi comprendre l'existence de la glande mammaire chez les mâles de certaines espèces et le clitoris chez la femelle.

A la suite de certaines stimulations spéciales, il est possible de réveiller le développement de ces organes qui réagissent, à ce moment, comme de simples organes-cibles aux hormones normalement absentes dans la circulation ou sécrétées en si faible quantité, qu'elles sont au-dessous du seuil d'activité (chez les mâles les glandes mammaires aux œstrogènes et à la prolactine; chez les femelles le clitoris aux androgènes).

Ces quelques réflexions font donc paraître moins surprenante la masculinisation ou même l'hyperféminisation des femelles.

A. PREMIÈRE PARTIE: INTRODUCTION

I. HISTORIQUE

Il est clair qu'un sujet tel que la masculinisation de femelles a fortement troublé les esprits et a donné lieu à diverses catégories d'études. Quelles sont alors les premières observations et expériences faites dans ce domaine et quelles sont les causes pouvant provoquer ce phénomène ?

En 1916, Lipschütz, sur du matériel de Steinach, a découvert chez des femelles de Cobayes la transformation du clitoris en un organe péniforme par des greffes de testicules, le greffon devenant alors artificiellement chez la femelle la source endogène d'hormones androgènes.

En 1924, le même auteur observe la virilisation spontanée de femelles de Cobayes, fait qui a été également remarqué et publié par GUYÉNOT (1932). Ces expériences (cf. aussi PAPANICOLAOU 1934) ont constitué véritablement le point de départ de toute une série de travaux cherchant à localiser le tissu sécrétant les androgènes chez la femelle.

Le mécanisme de la masculinisation spontanée peut être ramené soit à un déséquilibre hormonal en fonction de l'âge avancé — puisque cette anomalie frappe avant tout les vieilles femelles (LIPSCHÜTZ, GUYÉNOT) — soit à une constitution anormale à la suite de croisements interspécifiques (GUYÉNOT et DUSZYNSKA-WIETRZYKOWSKA 1935).

La masculinisation spontanée peut être due également à des causes ne mettant pas en jeu les relations hormonales de l'ovaire seul. Comme des expériences plus approfondies l'ont montré, il faut attribuer aussi à la surrénale, sinon tout, du moins une partie de la sécrétion des androgènes (HODLER 1937).

La masculinisation des femelles a été observée à la suite d'injections d'hormones mâles en présence et en l'absence de l'ovaire (PHELPS et BURCH 1938; PAESI 1947) ou après des greffes de testicules (LIPSCHÜTZ 1916; MOORE 1921). Viennent ensuite les nombreux travaux de greffes d'ovaires sur Cobayes mâles castrés suivis de remasculinisation (LIPSCHÜTZ 1932). Il s'agit cependant dans ce cas d'une fausse masculinisation, c'est-à-dire d'une simple hypertrophie pondérale du tissu conjonctif et musculaire avec atrophie glandulaire.

Cette action typique des œstrogènes a été d'ailleurs retrouvée chez le Cobaye (BAERTSCHI et PONSE 1933), chez les Souris (DE JONGH 1935, HILL et GARDNER 1936 et 1937; PFEIFFER 1942) et chez les Rats (HERNANDEZ 1943; DEANESLEY 1938).

A la suite des greffes auriculaires certains auteurs avaient été amenés à des conclusions erronées en attribuant à la température à laquelle le greffon ovarien est exposé une trop grande importance qui a quelque peu faussé la notion d'équilibre hormonal.

Mais la découverte de la masculinisation expérimentale paradoxale des femelles proprement dite a été faite simultanément par STEINACH et KUN en 1931 et par GUYÉNOT, PONSE et leurs collaborateurs (publié à partir de 1932), tous travaillant sur les Cobayes. Cependant, le Cobaye n'a pas été le seul animal étudié, d'autant

plus que Rats et Souris sont des animaux de laboratoire plus courants.

Il y a eu entre autres toute la série des travaux de HILL et ses collaborateurs depuis 1936 sur les Souris (greffes et tumeurs spontanées).

Beaucoup de travaux ont été effectués également sur le Rat, puisque anatomiquement il possède des « indicateurs aux androgènes » très précieux: en particulier la glande prostatique présente chez les femelles de la race Long-Evans dans un pourcentage relativement élevé de cas, et que PONSE a pu greffer à la surface de l'ovaire normal ou stimulé par la gonadotropine virilisante comme récepteur mâle hypersensible (1951, 1954 *a* et *b*).

Si la valeur des différentes conclusions tirées de ces travaux a été souvent violemment contestée, un fait, qui a été reconnu très tôt, reste cependant acquis: La masculinisation est étroitement liée à l'aspect pseudo-lutéinique de l'ovaire, et c'est ce tissu qui a été rendu responsable de la sécrétion d'hormones androgènes (BRADBURY 1939, 1940, 1941; DEANESLEY 1938).

En 1950, PARKES, puis en 1955, PONSE — dans son étude sur « la fonction androgène de l'ovaire chez l'animal » — ont analysé de façon très complète les travaux concernant ce sujet.

A la suite d'un cas exceptionnel, et après 2 ans et demi de greffes ovariennes subrénales — donc à l'extérieur du péritoine du corps — également masculinisantes, il est devenu évident, qu'il s'agit en définitive d'une lente dysfonction hormonale entre l'hypophyse et la gonade femelle. Ce déséquilibre touche finalement aussi bien les hormones gonadotropes hypophysaires que la sécrétion ovarienne; il a été observé de façon nette au cours de la virilisation par reliquats ovariens chez les Cobayes dans un certain pourcentage (LIPSCHUTZ 1933) ainsi que lors de traitements aux rayons X chez le Cobaye (J. GENTHER-SCHMIDT) et chez la Souris (FURTH).

Puisqu'il s'agit de dysfonction hormonale avec stimulation orientée de l'ovaire il semble que des traitements par les gonadotropines pourraient aboutir aux mêmes résultats. Ils ont d'ailleurs été obtenus chez les Cobayes étudiés surtout par GUYÉNOT et son école, dont le nom reste étroitement lié à ce domaine de recherche auquel il s'est intéressé dès 1932 (GUYÉNOT, PONSE, FLIHR 1932; GUYÉNOT, PONSE, TROLLIET 1933; TROLLIET 1936), ainsi que par PAPANICOLAOU et FALK (1934, 1936), — DE JONGH et col. (1932)

Morato-Manaro et Albrieux (1938 et 1941) donnant une série d'expériences très complètes avec des dosages biologiques, — Schmidt (1947). Chez la Souris on peut citer Pfeiffer (1941) et chez le Rat Greene et Burill (1939), — Bradbury (1939, 1940, 1941), — Claesson et col. (1948), — Gaarenstroom et de Jongh (1946), — Ponse (1951, 1954 *a* et *b*).

Si Hamburger (1946) a étudié les effets des hormones gonadotropes chez la femelle de Cobaye impubère, il n'a cependant observé que l'aspect ovarien de la question et a perdu de vue l'action au niveau du clitoris.

Guyénot et Ponse ont commencé leur étude par des expériences sur des femelles de Cobayes traitées par des extraits d'hypophyse qui conditionnent un début de masculinisation le huitième jour. Mais, fait frappant, la présence de l'ovaire n'est pas absolument indispensable à la masculinisation. La stimulation du développement du clitoris est beaucoup plus faible mais existe chez la femelle castrée. De plus, elle peut persister ou même progresser après cessation du traitement. L'action des extraits d'urine de femme enceinte est beaucoup plus forte par contre, mais ne se fait sentir qu'en présence des ovaires. Elle s'accompagne souvent d'une féminisation reconnaissable au fort développement des mamelons.

On a donc nettement affaire à deux mécanismes distincts et très différents. C'est ainsi que dans le premier groupe d'expériences la sécrétion d'androgènes surrénaliens se fait sentir sous l'influence d'extraits hypophysaires impurs et riches en ACTH. De l'ensemble de ces travaux il ressort finalement que la masculinisation de la femelle de Cobaye est infiniment complexe et dépend d'une série de facteurs tels que la constitution germinale, l'action sur l'ovaire, l'hypophyse, la surrénale.

II. MASCULINISATION ET HYPERFÉMINISATION

Que désigne-t-on au juste par la masculinisation paradoxale des femelles ?

Si on injecte à un animal femelle des hormones gonadotropes, on s'attend tout naturellement à observer une stimulation gonadique, donc une augmentation de la sécrétion de stéroïdes. Implicitement, on admet qu'il doit s'agir d'hormones sexuelles femelles. Mais

le phénomène de la masculinisation, c'est-à-dire le développement des organes génitaux extérieurs dans le sens mâle, chez les femelles, prouve la présence d'une sécrétion androgène.

Alors que normalement le clitoris n'est qu'un petit organe caché par le repli balano-préputial mal clivé, il se développe fortement à la suite d'une stimulation appropriée, présentée par des hormones androgènes soit endogènes soit injectées. On voit apparaître tout d'abord deux éminences blanches qui se détachent et donnent naissance à des crochets, analogues aux crochets des mâles bien que beaucoup plus courts et moins complètement kératinisés. Il semble que cette transformation puisse se faire déjà en dehors de tout traitement. Des crochets de deux millimètres sont assez courants.

Puis, après clivage du repli balano-préputial et croissance du gland, le clitoris se transforme en un organe péniforme qui s'allonge de plus en plus. Dans les cas de forte stimulation, on observe des formations faisant penser à des verrues qui deviennent des « épines » ou « odontoïdes » situés principalement sur les côtés du clitoris et parfois même à l'extrémité des crochets.

Au sommet du clitoris on note souvent de petites peaux qui retiennent une masse caséeuse tantôt prise pour de la sécrétion sébacée analogue à celle des mâles provenant des glandes anales, tantôt pour un simple dépôt de résidu urinaire (cf. fig. de clitoris masculinisés).

Etant donné les conditions des expériences du présent travail qui m'obligeaient à isoler chaque bête dans une cage à métabolisme, il ne m'a pas été possible de remarquer les modifications de caractères qui accompagnent en général la masculinisation des femelles (agressivité, esprit batailleur, etc.).

Comment peut-on parler de féminisation et d'« hyperféminisation » d'une femelle et comment ce phénomène se manifeste-t-il ?

Sous l'influence des hormones sexuelles femelles, toute une série d'organes-cibles répondent par une forte stimulation. Macroscopiquement on peut suivre cette action au niveau des vagins (ouverture vaginale à la puberté et ruts successifs courts ou permanents chez des adultes hyperféminisées), et des mamelons. Ces derniers sont très sensibles aux fluctuations des stéroïdes sexuels (oestrogènes/progestérone) même au cours des cycles. Les mamelons deviennent alors alternativement turgescents et flasques et poursuivent leur croissance progressivement à chaque rut. Lipschütz

(1927) avait déjà proposé la mesure du degré de féminisation au moyen des mamelons chez les Cobayes mâles porteurs de greffes d'ovaires.

III. L'OVAIRE

STEINACH et KUN (1932), ainsi que GUYÉNOT à la même époque, avaient déjà été frappés par les transformations que subissait l'ovaire de Cobayes traités par les hormones gonadotropes: la lutéinisation. Ils avaient déjà supposé que c'était là le facteur responsable de la masculinisation.

En fait, les différents auteurs désignent souvent sous le terme général de « lutéinisation » différents aspects ovariens, ce qui a conduit à des confusions grossières contre lesquelles GUYÉNOT a lutté en donnant des définitions précises (1936, 1946).

Il faut savoir que les hormones gonadotropes renferment plusieurs principes actifs à action bien déterminée et dont la discrimination est spécialement nette chez le Cobaye.

1. L'ACTION DE L'HORMONE FOLLICULO-STIMULANTE

L'hormone agissant sur le développement des follicules est généralement appelée hormone folliculo-stimulante et désignée par les Anglo-Saxons sous le sigle « FSH ».

Mais cette appellation globale passe complètement sous silence la différence que GUYÉNOT a pu mettre en évidence par ses expériences:

l'hormone auxogène, sécrétée par l'hypophyse, est responsable de la croissance folliculaire exagérée en nombre et en taille. Cette hormone agit directement sur l'ovaire et peut donc être décelée également chez les femelles hypophysectomisées (fig. 1).

l'hormone acmogène, est hypophysotrope. Cette hormone est inactive sur les femelles hypophysectomisées et provoque, chez les femelles impubères normales, la maturation d'un nombre physiologique de follicules (fig. 2).

L'hormone acmogène — aussi nommée Prolan A — présente dans les gonadotropines chorioniques, a souvent été confondue avec le « FSH », c'est-à-dire l'hormone auxogène.



FIG. 1.
Réaction auxogène dans un ovaire de femelle immature de Cobaye, traitée par un extrait d'U.F.O. (× 27). — GUYÉNOT 1946.

2. L'ACTION DE L'HORMONE LUTÉINISANTE

On appelle hormone crinogène ou hormone lutéinisante (LH pour les auteurs de langue anglaise) — ou encore Prolan B — l'hormone



Fig. 2.
Réaction acmogène dans un ovaire d'une femelle immature, traitée par un extrait d'U.F.E. (× 22,5). — Guyénot 1946.

agissant sur la transformation des follicules en corps jaunes et responsable de la lutéinisation de l'ovaire, donc touchant aussi les éléments interstitiels, d'où l'abréviation ICSH (interstitial cell

stimulating hormone). Certains auteurs affirment que LH et ICSH ne seraient pas identiques.

Alors que l'action des hormones auxogène et acmogène est sans équivoque, il est nécessaire de distinguer entre les différentes réactions de l'ovaire à l'hormone crinogène.

a) *Lutéinisation vraie ou physiologique.*

Cette transformation n'a lieu qu'au niveau des follicules III mûrs, ayant ovulé ou non. Elle commence souvent par l'hypertrophie partielle des cellules de la granulosa (type follicule prélutéinique) et aboutit à un vrai corps jaune. La thèque n'est donc pas touchée et seule la granulosa se charge de fins lipides. Il faut cependant noter en marge qu'il semble que des follicules puissent être prélutéiniques sans qu'il y ait eu nécessairement stimulation par l'hormone crinogène chez un animal possédant son hypophyse. Cette transformation relèverait encore de l'hormone auxogène, préparant la granulosa à l'action de l'hormone lutéinisante. Puisqu'il est question de corps jaunes, il est indispensable de mentionner également leur évolution: les corps jaunes récents sont turgescents, de forme arrondie et font saillie à la surface de l'ovaire. Au début ils ne sont pratiquement pas soudanophiles. Mais petit à petit ils sont repoussés vers le centre de la gonade et dégénèrent. Vieux, ils sont complètement déformés et très lipidiques.

b) *Fausse lutéinisation ou pseudolutéinisation.*

Dans ce cas, il s'agit par contre d'hypertrophie de la thèque interne qui, elle, ne se charge pas de lipides. Plusieurs possibilités peuvent alors se présenter: Dans les follicules jeunes, la thèque interne est sensible à l'hormone lutéinisante, alors que la granulosa ne l'est pas encore. D'autre part, la thèque des follicules atrétiques peut également subir l'action crinogène et s'hypertrophier, donnant naissance aux faux corps jaunes (fig. 3, 4).

S'ils ont déjà été découpés par les travées conjonctives, ils se présentent comme des plages de tissu thécal ou tissu interstitiel hypertrophié. Celui-ci est également riche en lipides soudanophiles, à moins d'être fortement stimulé par l'hormone crinogène, auquel cas il devient soudanophobe et les cellules s'hypertrophient considérablement.

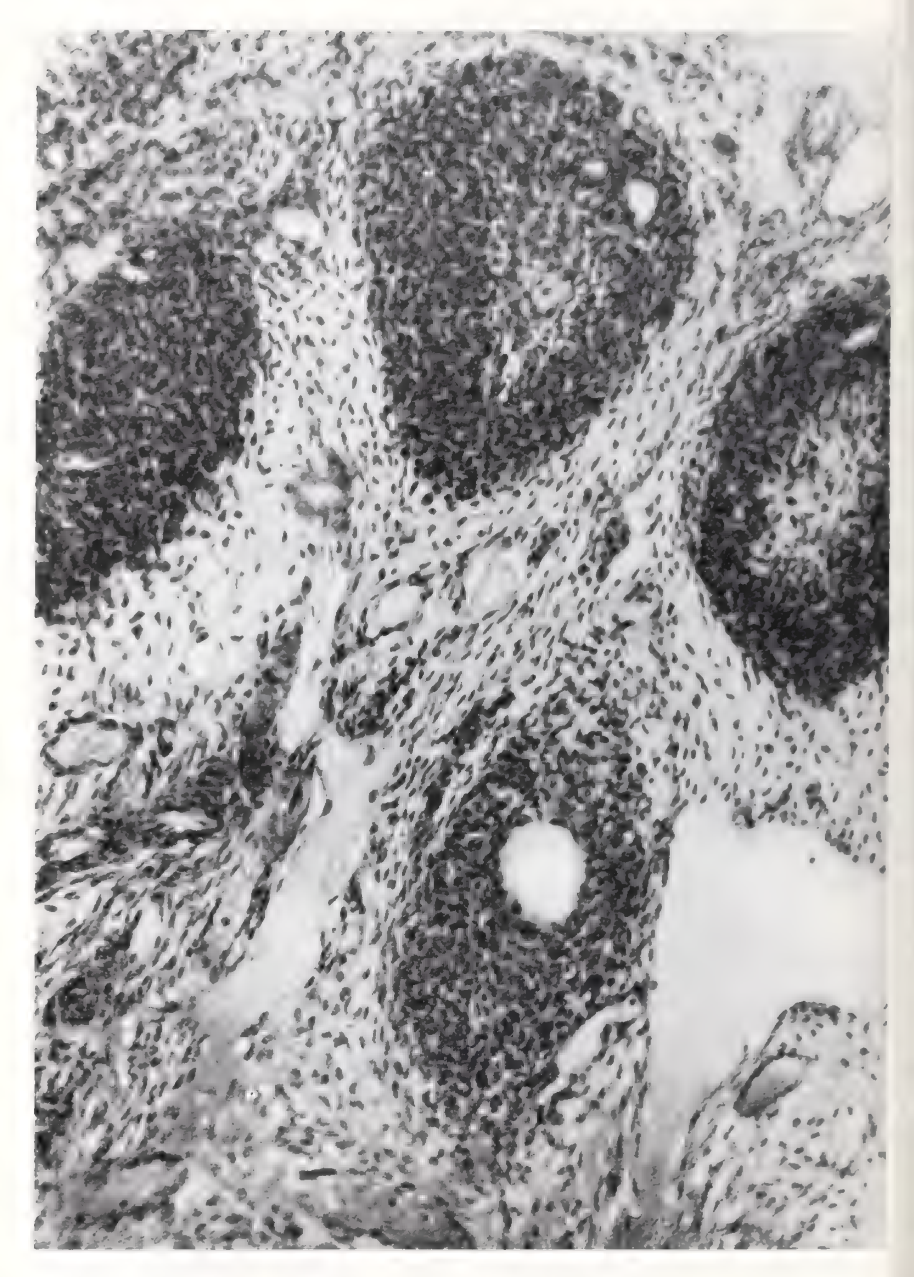


FIG. 3.

Coupe d'un ovaire de jeune femelle immature témoin, montrant des faux corps jaunes atrétiques formés de cellules thécales non hypertrophiées (× 190). — GUYÉNOT 1946.

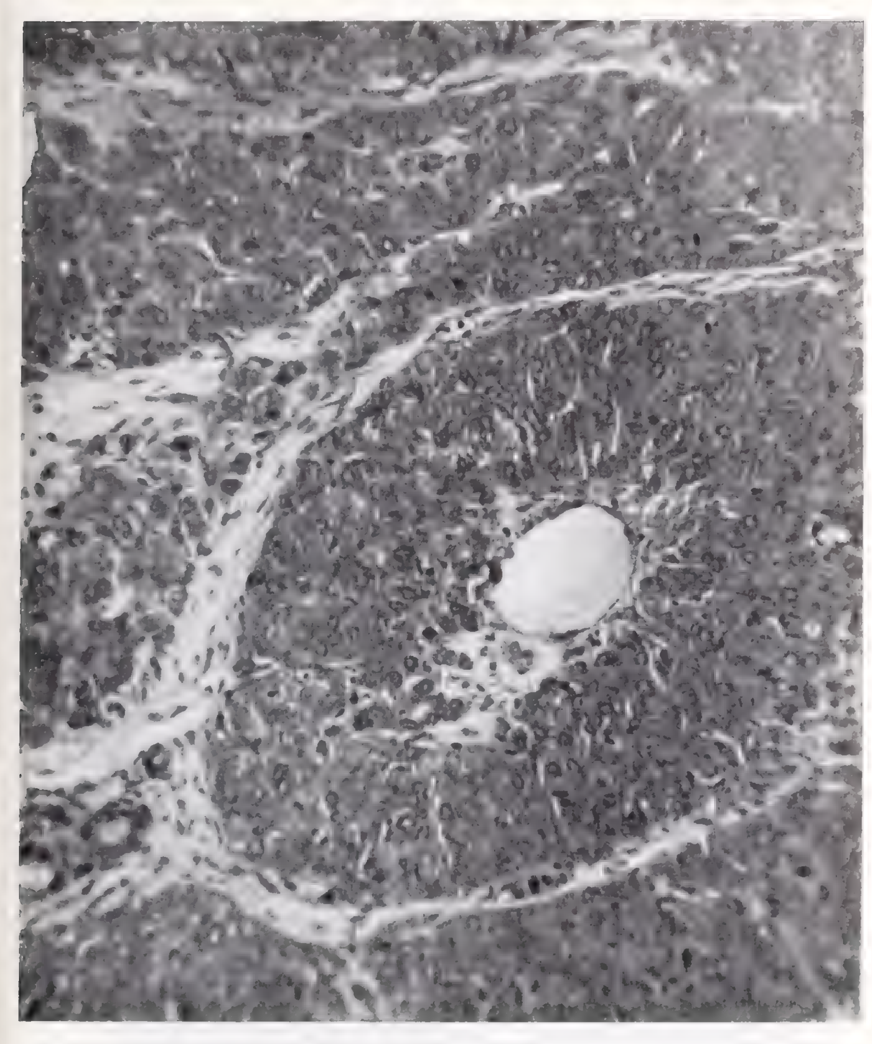


FIG. 4.
Coupe d'un ovaire en réaction crinogène; pseudolutéinisation d'un faux corps jaune et de plages avoisinantes de cellules thécales (× 190). — GUYÉNOT 1946.

c) *L'hépatisation.*

Le terme d'hépatisation (fig. 5) a été choisi pour désigner un aspect très particulier de l'ovaire rappelant une coupe de foie. Il n'y a alors plus ni follicules secondaires ni follicules tertiaires,

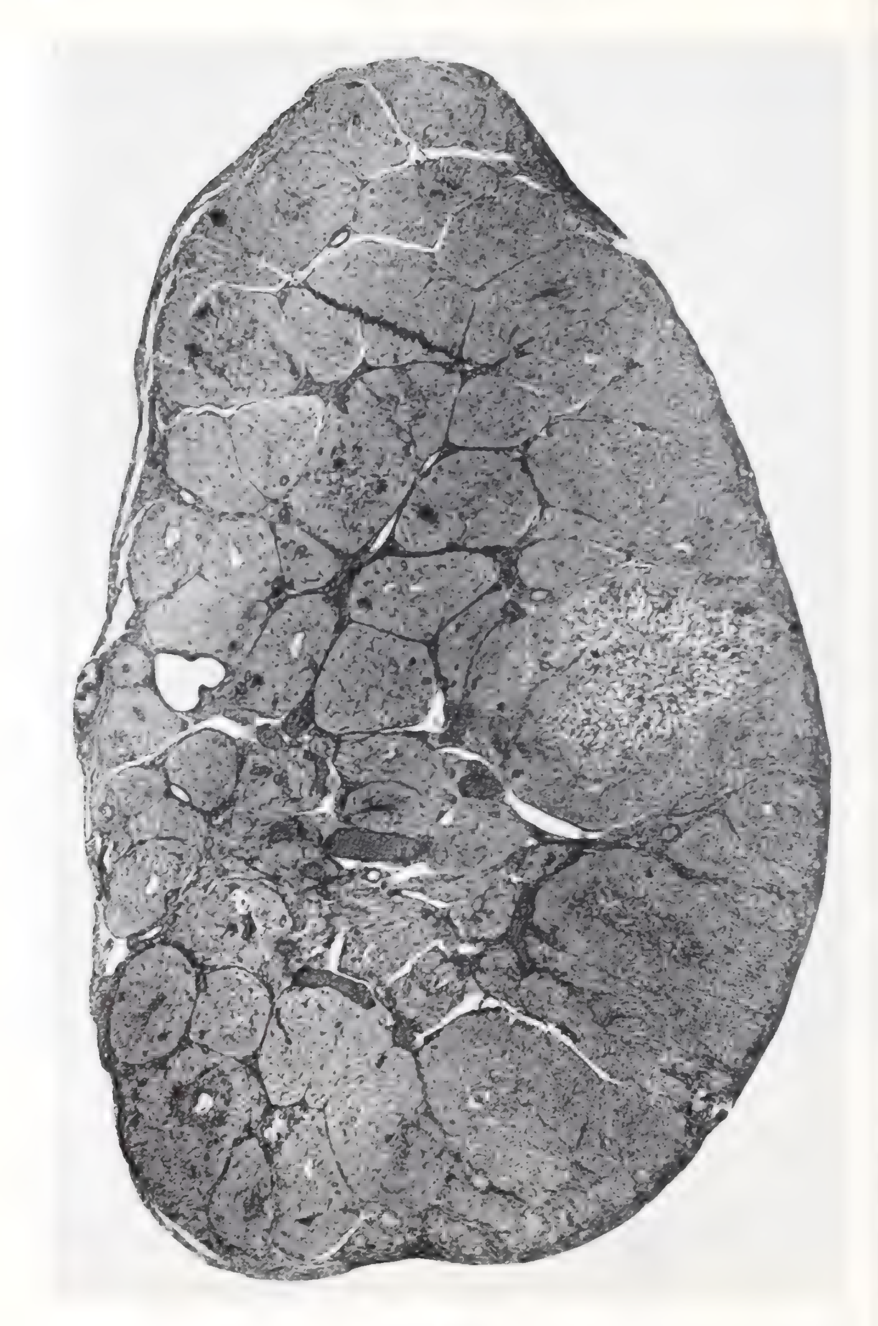


Fig. 5.
Ovaire en hépatisation chez une femelle traitée par une très forte dose d'U.F.E. (× 25). — Guyénot 1946.

tous ayant subi l'atrésie et l'hypertrophie consécutive de la thèque, si bien qu'on est en présence d'une masse presque homogène de faux corps jaunes volumineux et crinogènes ne possédant plus qu'une très petite cavité centrale. C'est le fait d'une forte stimulation continue par l'hormone lutéinisante exclusivement.

3. Action mixte des deux facteurs gonadotropes

Il ne faut cependant pas oublier qu'il existe pour les différents tissus folliculaires des seuils de sensibilité aux hormones gonadotropes et ceci en fonction de l'état de développement du follicule même. A un certain moment, thèque et granulosa peuvent s'hypertrophier ensemble sous l'influence du facteur crinogène. On obtient alors des « *méroxanthosomes* » (fig. 6) pouvant présenter des tailles variables et même évoluer en devenant kystiques ou hémorragiques. Il est bien entendu qu'en l'absence totale du facteur folliculo-stimulant, ces éléments ne peuvent pas se former et chez les femelles hypophysectomisées on a de très petits méroxanthosomes à granulosa et thèque lutéinisées, ne laissant guère de cavité.

Certains ovaires présentent des *follicules hémorragiques*. Lipschütz, dans ses nombreuses expériences, a démontré qu'ils résultent d'un déséquilibre particulier entre les deux hormones gonadotropes: il faut que ces deux hormones réalisent des proportions critiques, bien définies.

Si l'on injecte des doses massives de gonadotropines, le facteur lutéinisant se trouve en trop forte quantité, dépassant nettement le facteur folliculo-stimulant. L'ovaire ne contient alors pas de follicules hémorragiques. Seule une accoutumance partielle au facteur lutéinisant peut, à longue échéance, entraîner des conditions favorables à la formation de ces éléments pathologiques.

4. Accoutumance

Sans entrer dans les détails de l'accoutumance, il est nécessaire de rappeler qu'il s'agit d'un phénomène d'immunisation envers une protéine étrangère, et assez curieusement envers le fac-



Fig. 6.

Réaction crinogène dans l'ovaire d'une femelle immature traitée par une dose moyenne d'U.F.E. lutéinisation vraie avec formation de corps jaunes et de méroxanthosomes (× 30). — Guyénot 1946.

teur crinogène seulement, l'accoutumance au facteur folliculo-stimulant n'existant pas [1].

Cette réaction, mise en évidence par l'aspect histologique de l'ovaire, peut apparaître plus ou moins rapidement, suivant l'âge et la race de l'animal. Pour le Cobaye on admet qu'elle survient après un traitement continu d'au moins quinze jours.

Guyénot et ses collaborateurs (1937) ont observé qu'après un traitement prolongé aux extraits préhypophysaires de Bœuf, la réapparition de cycles œstraux indique nettement l'accoutumance à l'hormone crinogène injectée.

Des expériences analogues ont amené Binder (1949) à conclure que l'« accoutumance aux principes gonadotropes d'origine choriale et humaine, ne paralyse nullement les actions des hormones auxogènes et crinogènes sécrétées par l'hypophyse de l'animal lui-même ».En général, l'hypophyse de l'animal accoutumé produit moins d'hormone lutéinisante et plus d'hormone folliculo-stimulante, ce qui a pu être prouvé par l'apparition de la puberté précoce chez des femelles impubères recevant du sérum d'animaux accoutumés. En outre, on a pu observer des cellules de castration géantes, typiques, dans l'hypophyse de Rat.

Il faut cependant signaler un travail récent où l'auteur s'est proposé de doser biologiquement les taux d'hormones lutéinisante et folliculo-stimulante dans le sérum de Rats au cours de différentes expériences (Gans, 1959). En ce qui concerne plus particulièrement les résultats pouvant être mis en rapport avec mon sujet, on peut relever que chez les femelles castrées, traitées par les hormones stéroïdes sexuelles, les deux gonadotropines hypophysaires diminuent. Toutefois, cette diminution semble moins marquée dans le cas de la testostérone que du benzoate d'œstradiol.

En résumé. Dès lors, il est clair qu'à côté d'un seul état physiologique simple, l'ovaire réagit extraphysiologiquement de différentes façons. Ce n'est donc jamais le poids de l'ovaire, mais bien son examen histologique qui révèle l'étendue et l'action d'un traitement (fig. 7).

Est-il possible de traduire par un chiffre précis l'état crinogène d'un ovaire ? C'est à Guyénot (1946) que nous devons ce mode de

[1] Cf. également les travaux très intéressants de Maddock et coll. (1949) sur Homme, laissant supposer une certaine accoutumance au facteur auxogène, pas observée dans les conditions de nos expériences.



FIG. 7.
Réaction acmogène, avec lutéinisation physiologique secondaire, dans l'ovaire d'une femelle âgée de 45 jours, traitée par 0,3 cc d'U.F.E. (× 30). — GUYÉNOT 1946.

mesure. Il s'agit de l'*index nucléaire*; index, par lequel on mesure l'état d'activité du tissu théco-interstitiel et donc l'action du facteur lutéinisant seulement.

Tout au long du présent travail j'aurai à me référer à l'index nucléaire puisqu'il servira de base aux différentes conclusions.

B. DEUXIÈME PARTIE: EXPÉRIENCES PRINCIPALES

Action du Physex sur femelles de Cobayes normales et hypophysectomisées

CHAPITRE I. EXPOSÉ DU TRAVAIL

1. But du travail

Dans son travail sur le Rat, entrepris en Amérique, K. Ponse a démontré que l'ovaire était nécessaire à la masculinisation par les gonadotropines et que l'effet obtenu était proportionnel à la masse de tissu d'atrésie folliculaire (1951, 1954 *a* et *b*). De plus, cette virilisation se faisait mieux encore en l'absence de l'hypophyse ou des surrénales ou de ces deux types de glandes.

Le but de mes recherches était alors de reprendre ces expériences chez le Cobaye pour pouvoir, d'une part, étudier morphologiquement le rôle exact du tissu crinogène de l'ovaire et, d'autre part, fournir du matériel aux chimistes qui allaient effectuer les dosages des métabolites urinaires des hormones génitales (cf. travaux de Guyénot; Westman, Jacobsohn 1944).

Si le Rat est plus facile à opérer et plus résistant aux chocs, il possède cependant un métabolisme spécial rendant les dosages des stéroïdes urinaires très difficiles. Par ailleurs le cycle du Cobaye (dix-huit jours) est beaucoup plus long que celui du Rat (quatre à cinq jours). J'ai donc plus de chances de commencer chez l'animal adulte un traitement au moment d'une phase pure du cycle (phase folliculaire ou phase crinogène) que chez le Rat, où les actions des hormones auxogène et crinogène se superposent. Et finalement, comme les ovaires de Rat présentent souvent un état lutéinique partiel spontané, même sans injection d'hormones, l'aspect de l'ovaire de Cobaye reflète plus fidèlement les effets des traitements (Guyénot 1946).

Désirant établir la relation « virilisation des femelles de Cobayes-tissu crinogène ovarien », j'ai cherché à obtenir du tissu sécrétant

des androgènes uniquement. J'ai donc stimulé les ovaires par des injections d'hormones gonadotropes, c'est-à-dire tout particulièrement avec de fortes doses de gonadotropes chorioniques et non avec du sérum de jument gravide, puisque celui-ci contient, en plus de l'hormone crinogène, une forte proportion d'hormone folliculo-stimulante préhypophysaire.

En outre, il fallait obtenir des ovaires ne possédant plus, ni du tissu folliculaire (sécrétion d'œstrogènes), ni des formations lutéiniques (sécrétant de la progestérone). Afin que l'ovaire ne soit soumis strictement qu'aux hormones injectées, ainsi que pour éviter une éventuelle action de l'hormone acmogène, j'ai dû soustraire l'animal à toute action de son hypophyse. Ceci n'est possible que dans deux cas:

— L'animal est très jeune — bien avant sa puberté — et l'hypophyse n'a pas encore atteint sa maturité de sécrétion de gonadotropines. Mais il persiste dans ce cas le danger d'un « réveil hypophysaire » au cours des traitements de trois semaines;
— L'animal — jeune adulte — donc plus résistant, est hypophysectomisé.

Cette opération avait été mise au point par Guyénot chez le Cobaye et reprise depuis par différents auteurs pour d'autres expériences (Gomez 1942; Hill 1942; Schweizer et al. 1950; Fetzer 1952).

De façon à pouvoir disposer d'une quantité suffisante d'hormone, si possible de même composition, et aussi pour pouvoir exprimer les doses administrées en U. I., j'ai utilisé principalement des produits pharmaceutiques (Physex Leo, Copenhague), et non des extraits urinaires de notre laboratoire.

Dans une série d'expériences préliminaires j'ai cherché à fixer pour mes expériences l'âge minimum des Cobayes et les doses à injecter.

2. Essais préliminaires

Sachant que K. Ponse travaillait avec des Rats Long-Evans impubères de vingt-huit jours, recevant tantôt de l'Antophysine (mesuré en U.R.), tantôt de l'Antuitrine S (dix jours à 20 U.I. — dix jours à 40 U.I. — trois jours à 20 U.I.), et ne connaissant pas

la dose quotidienne nécessaire pour obtenir chez le Cobaye le degré de virilisation désiré, je me suis demandée s'il était possible de se baser sur une relation « dose — poids du corps », sans tenir compte de la sensibilité du Cobaye vraisemblablement différente de celle du Rat.

Les premières injections d'Antuitrine S avaient été faites à des Rats pesant 60 grammes en moyenne, la dose relative initiale étant de 33 U.I. par 100 grammes de poids du corps. Dans ma première série d'expériences, cinq Cobayes, âgés de trois semaines et pesant en moyenne 127 grammes (95 g à 165 g), ont reçu d'abord trois injections de 40 U.I., puis chaque Cobaye a reçu des doses journalières différentes de 60 U.I., 90 U.I., 120 U.I., 150 U.I. et 180 U.I., et cela jusqu'à la fin de l'expérience.

Les doses totales au moment de l'autopsie à l'âge de six semaines étaient de 840 U.I. — 1170 U.I. — 1520 U.I. — 1870 U.I. et de 2220 U.I. Macroscopiquement, on constate que la masculinisation de toutes les femelles s'accompagne d'un développement des mamelons.

Le degré de la virilisation est proportionnel à la dose administrée (cf. tableau I).

TABLEAU I.

Rapport entre le degré de virilisation et la dose, avec mention de l'index nucléaire

N° de la femelle	Dose quotidienne	Virilisation	i. n.
101	60 U.I.	développement du clitoris assez facilement dévaginable avec crochets	8,5
100	90 U.I.	idem	8,4
103	120 U.I.	idem avec desquamation au sommet du clitoris	12,6
102	150 U.I.	clitoris plus grand, plus dévaginable; odontoïdes sur le flanc du clitoris et sur les extrémités des crochets	10,7
104	180 U.I.	idem	13,5
105	Témoin	—	35,8

Etude histologique.

Ovaires. — Les index nucléaires (i.n.) des ovaires, énormes par rapport au témoin, sont significatifs (cf. tableau I).

A 60 et 90 U.I. les ovaires sont très fortement lutéinisés, les follicules hémorragiques rares et les follicules III de taille moyenne, parfois à granulosa prélutéinique. Les corps jaunes font défaut ; par contre les méroxanthosomes abondent.

L'importance de la croissance folliculaire augmente avec la dose et restreint la quantité de tissu théco-interstitiel pseudolutéinisé; c'est-à-dire, les follicules III occupent finalement une place prépondérante dans l'ovaire par leur nombre et leur taille.

A 180 U.I., les coupes d'ovaires, de grandeur démesurée, présentent un véritable aspect de « dentelle ». Les follicules hémorragiques sont peu nombreux et les corps jaunes extrêmement rares, alors que les méroxanthosomes, prenant de plus en plus de place, sont finalement étranglés entre les follicules III.

Vagin. — On note que les vagins de toutes les femelles traitées se sont ouverts et sont mucifiés à l'autopsie: hypermucification exagérée pour les faibles doses (60 U.I. et 90 U.I.), mucification avec quelques leucocytes, sans stratification basale pour les autres femelles.

Cornes utérines. — Les hormones crinogène et auxogène agissant en synergie sur l'ovaire ont très fortement stimulé les cornes utérines. Les cinèses y abondent, l'épithélium est frangé; la tendance à la formation de polypes, indiquant une évolution glandulo-kystique, est spécialement prononcée aux faibles doses (cf. Phelps, Burch 1938).

Conclusions de l'expérience préliminaire.

A la suite de cette première expérience, j'avais choisi la dose de 150 U.I. par jour en me basant plutôt sur l'aspect du clitoris que sur l'état de l'ovaire.

Sachant que l'administration chronique de fortes doses d'hormones gonadotropes chorioniques entraine — après accoutumance plus ou moins partielle au facteur crinogène injecté — un taux élevé de stéroïdes endogènes circulants (œstrogènes, d'où également hyperféminisation), je pouvais admettre que chez des animaux impubères, non opérés, l'hypophyse — d'abord au repos — allait réagir

par une sécrétion exagérée d'hormone auxogène. L'état histologique ovarien observé traduisait alors la réponse à une stimulation mixte par les hormones gonadotropes endogènes et exogènes.

D'autre part, l'effet folliculo-stimulant observé a été plus ou moins proportionnel à la dose injectée. Ceci suggère une hypothèse selon laquelle l'urine de femmes enceintes contient de faibles quantités de cette hormone provenant de l'hypophyse de la femme même, ce qui a été démontré sur Rats hypophysectomisés (Drescher, Stange 1955; Simpson 1955) et dernièrement sur Souris impubères (Butt et al. 1957).

Il en est forcément résulté un déséquilibre hormonal qui se manifeste par la présence de follicules hémorragiques et l'évolution glandulo-kystique des cornes utérines.

Cependant seules les expériences sur femelles de Cobaye hypophysectomisées m'ont appris ultérieurement que la dose de 150 U.I. avait été mal choisie. Il était faux de négliger la différence de sensibilité entre les Rats et les Cobayes. De plus l'ensemble des premiers essais m'a prouvé que c'était accumuler inutilement les obstacles que de vouloir travailler avec des Cobayes impubères ou trop jeunes, et j'ai utilisé par la suite des animaux d'un âge et d'un poids minimum (400 g-500 g; 4 mois), pour assurer une survie post-opératoire suffisante d'au moins quatre semaines (20 injections, dont la première environ dix jours après l'opération).

3. Matériel et méthodes

Les Cobayes que j'ai utilisés étaient en général de jeunes adultes nullipares d'environ dix-huit semaines et pesant 400 à 500 grammes. La plupart provenaient de notre élevage. D'autres m'ont été fournis par Wander (Berne) et par un élevage genevois. Toutefois j'ai évité de travailler avec des albinos en raison de leur moindre résistance aux opérations. Malgré cela j'ai remarqué une nette différence de sensibilité des animaux étrangers, ainsi qu'une moyenne des poids relatifs des organes des témoins différente de celle observée dans notre laboratoire.

Toutes les bêtes ont été suivies régulièrement en ce qui concerne leurs cycles et leurs poids avant et pendant les expériences.

Dans le présent travail j'ai désigné par « série » l'ensemble des Cobayes, soit normaux, soit hypophysectomisés, recevant la même

dose quotidienne. Lorsque les résultats ont fait ressortir différents types de réactions, il sera question de « groupes » d'animaux.

a) *Opérations.*

Toutes sont effectuées sous anesthésie à l'éther seulement.

— Quelques castrations bilatérales ont été nécessaires pour vérifier l'absence d'oestrogènes dans les préparations de gonadotropines utilisées et pour étudier l'effet des androgènes injectés sur le tractus génital, afin d'établir dans mes expériences les relations entre la sécrétion d'androgènes ovariens et l'aspect des cornes utérines.

— L'hypophysectomie du Cobaye par voie parapharyngienne a été décrite, en détail, dans une publication antérieure (Rosenbusch, Ponse 1957). L'animal, dont la tête est retenue dans un moule, est anesthésié à l'éther (canule et trachéotomie). On atteint rapidement la surface du basi-sphénoïde et pratique une trépanation en ayant soin de placer un entonnoir sur la crête médiane du côté distal de la suture des sphénoïdes (lumière plongeante!). Cet entonnoir sert d'écarteur, de guide et permet d'éviter l'entraînement des muscles lors de la trépanation. L'extirpation de la glande se fait par une légère aspiration au vide au moyen d'une canule à trou de règlage, reliée à un flacon intermédiaire permettant de recueillir le tissu prélevé. Immédiatement après l'aspiration on place du Gelfoam (substance synthétique coagulante pouvant être résorbée par l'organisme) pour prévenir l'hémorragie.

b) *Traitement.*

Le traitement « standard » a été de 20 injections sous-cutanées en 20 jours à raison de 1 cc par jour quelle que soit la dose. Comme le but de l'hypophysectomie est de supprimer le facteur auxogène hypophysaire, donc la présence de follicules dans l'ovaire, les traitements n'ont jamais suivi immédiatement l'opération. J'ai attendu, en général, entre 4 et 10 jours pour permettre la disparition de l'hormone hypophysaire de la circulation et l'atrésie des follicules ovariens.

c) *Autopsie.*

Tous les animaux sont sacrifiés le lendemain de leur dernière injection. Ils sont pesés et leur état vaginal noté. Les mamelons

et le clitoris sont dessinés à la chambre claire et les dessins photographiés; puis les mamelons et les crochets clitoridiens sont mesurés (grossissement: 7,6 ×). J'ai prélevé tout le tractus génital, les thyroïdes, les surrénales, la rate, l'hypophyse et pesé les organes. Pour des raisons de commodité leur poids relatif, exprimé en « pour cent », signifie X mg du poids de l'organe par rapport à 100 grammes de poids du corps. Lorsqu'il s'agissait d'animaux hypophysectomisés, j'ai examiné soigneusement sous binoculaire l'emplacement de la selle turcique, fixé tout tissu suspect et, en cas de doute, prélevé et décalcifié la base du crâne.

Les ovaires, ainsi que tous les reliquats hypophysaires, ont été coupés en série. Ceci est très important, d'une part, pour s'assurer de la présence ou de l'absence de tout corps jaune dans l'ovaire et, d'autre part, pour identifier le tissu supposé hypophysaire et éventuellement sécréteur (reliquat de pars anterior, pars tuberalis ou tout autre tissu).

d) *Histologie.*

Les coupes ont été colorées à l'hémalun-éosine et au Mallory. J'ai utilisé le mucicarmin pour les vagins afin de vérifier l'état muqueux de l'épithélium. Les lipides ont été mis en évidence avec le Rouge Soudan sur des coupes à la congélation de l'ovaire, des cornes utérines et des surrénales. De plus, les ovaires et les surrénales ont été colorés au Schultze (cholestérol et précurseurs stéroïdes) et au plasmal (lipides en catabolisme et en anabolisme).

Ces colorations spéciales ont donné aussi de précieuses indications, puisque la soudanophilie disparaît après stimulation moyenne et forte de l'ovaire par le facteur lutéinisant ainsi qu'après ratatinement cellulaire dû à l'hypophysectomie.

Il est à noter que la granulosa des follicules « prélutéiniques » et des méroxanthosomes présente de fins lipides soudanophiles comme chez les corps jaunes en formation. Ils disparaissent en grande partie lors de la période d'état du corps jaune et réapparaissent sous forme de macroliposomes soudanophiles lors de son involution. Chez un animal traité par des gonadotropines et en voie d'accoutumance il y a également réapparition progressive de ces lipides (cf. remontée de l'index nucléaire).

L'index nucléaire a été mesuré pour chaque bête.

« Index nucléaire »: on dessine dans des carrés de 3 cm de côté, à la chambre claire — au grossissement de 775 fois — tous les noyaux du tissu théco-interstitiel, c'est-à-dire des faux corps jaunes atrétiques. On procède 12 fois pour chaque animal: si possible 6 fois pour chaque ovaire en variant l'emplacement et sur des coupes de 8 μ (7 μ dans mes expériences) et l'on calcule la moyenne.

L'hypertrophie du tissu interstitiel se manifeste par un abaissement du nombre des noyaux qui sont plus grands et plus espacés, et l'atrésie, au contraire, par une élévation de l'index, donc du nombre de noyaux par unité de surface (fig. 8).

Guyénot a donné les valeurs normales suivantes:

Tableau II.

Valeurs des index nucléaires (Guyénot 1946)

Histologie de l'ovaire	Valeurs limites	Moyenne
Femelle normale, au cours du cycle	34-40 *	37,2
Lutéinisation vraie		34,5
Pseudo-lutéinisation manifeste	<30	21,6
Hépatisation = hypertrophie maximale		12,8
Atrésies	>40	

* Chez le Rat l'index normal est plus bas (31).

Tous les tractus ont été photographiés in toto et j'ai fait des photographies des coupes microscopiques des ovaires (13,5 ×), vagins (57 ×), cornes utérines (20 ×). Pour des raisons didactiques, toutes les figures ont été composées au même grossissement.

e) *Critères de l'hypophysectomie.*

Le fait d'avoir prélevé par aspiration la glande complète ne constitue pas un critère suffisant pour affirmer une réussite totale de l'opération; quelques cellules peuvent s'être détachées et, après un certain laps de temps, être redevenues fonctionnelles. (Jacobsohn 1954; Billenstein et Leveque 1955).

De plus, la *pars tuberalis* semble jouer un certain rôle dans quelques cas (Moricard 1947). Embryologiquement, elle est constituée par les mêmes cellules que la pars anterior, et l'on peut

se demander avec raison si, dans certains cas, la pars tuberalis ne peut remplacer partiellement certaines fonctions de l'hypophyse absente. Toutefois, cette substitution ne se produirait pas toujours, car la taille et la capacité fonctionnelle de cette glande varient chez les animaux normaux.

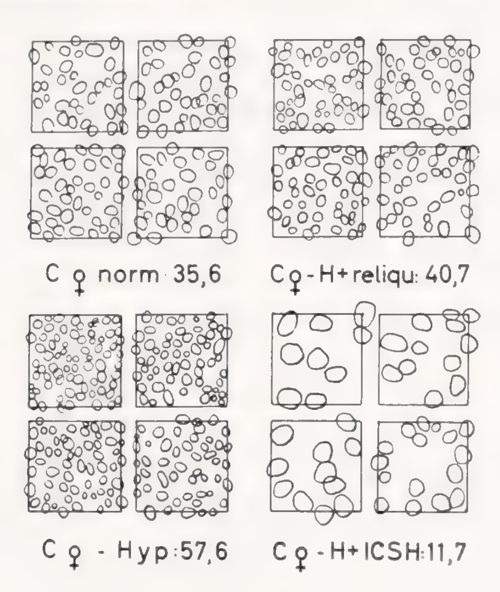


Fig. 8.
Index nucléaire du tissu théco-interstitiel selon Guyénot. — Rosenbusch-Weihs, Ponse 1957.

Il faut alors chercher les critères de l'ablation totale de la glande pituitaire au niveau des organes cibles des stimulines, c'est-à-dire au niveau des thyroïdes, des surrénales, des gonades. C'est pourquoi la chute du poids relatif (mg‰) et surtout l'aspect histologique ont été pris en considération.

Je parlerai ailleurs des conclusions relatives à l'*ovaire*.

Thyroïdes. — Vu le poids relatif (en ‰ du poids du corps) des thyroïdes relativement élevé dans notre élevage, la réaction pondérale apparaît très variable. Je me suis surtout basée sur la mise au repos de l'épithélium des acini et de la colloïde, ainsi que sur l'absence de « vacuoles de résorption » - signe d'activité. J'ai alors noté que cette régression fonctionnelle se faisait assez lentement.

Surrénales. — A la suite de la suppression de l'hormone corticotrope (ACTH), les surrénales régressent et perdent en grande partie leurs activités sécrétrices. La survie des animaux hypophysectomisés est donc fortement compromise par l'absence relative des hormones corticoïdes. Cette mise au repos pathologique du cortex surrénalien peut être observée histologiquement par la régression de l'étendue de la zone spongiocytaire soudanophile, finalement limitée à une mince couche de 1/5 à 1/6 de l'épaisseur du cortex dans la fasciculée externe (Guyénot 1937; Fetzer 1952; Tonutti 1951).

Les différentes colorations donnent sensiblement les mêmes résultats.

Lorsque le poids relatif des surrénales — dont la normale oscille autour de 65% — était égal ou dépassait 47%, j'ai conclu à la présence d'un reliquat hypophysaire.

f) *Critères de la masculinisation et de l'hyperféminisation.*

Tout au long des expériences j'ai suivi l'évolution du clitoris qui se fait selon la description précédemment donnée. C'est donc avant tout la première apparition des signes de la masculinisation, le clivage du repli balano-préputial, ainsi que le développement et la dévagination du clitoris, la taille des crochets et surtout la présence d'odontoïdes, qui deviennent déterminants.

Pour évaluer l'évolution dans le sens d'une hyperféminisation des animaux traités, je me suis basée sur l'aspect des mamelons, leur turgescence indiquant une faible stimulation. Parfois ils sont croûtelleux. Le maximum d'hyperféminisation est réalisé dans quelques cas lorsqu'à la suite d'une légère pression on observe la sécrétion d'une goutte de collostrum.

CHAPITRE II. LES TÉMOINS

1) Femelles de Cobayes normales

13 femelles, d'âge variable, ont servi de témoins à mes expériences. En général, elles ont été autopsiées en même temps que les femelles traitées d'un même groupe.

Il s'agit de 5 femelles impubères, âgées de trois à dix semaines, n'ayant jamais présenté de ruts, de 5 femelles âgées de quatre à six mois et de trois femelles ayant plus d'un an (environ 14 mois).

Trois des femelles impubères — dont deux sœurs — ont été sevrées, au moment du changement d'alimentation saisonnier, et ne l'ont pas supporté. Il en est résulté un état de santé déficient et une chute de poids du corps. Au moment de l'autopsie, le poids relatif et l'état des surrénales indiquaient un état de « choc ». De plus, les deux sœurs (153 et 154) étaient porteuses de tumeurs intra-ovariennes. La même tumeur a d'ailleurs été retrouvée chez une autre femelle, jeune adulte de 15 semaines (260). Il est évident que ces animaux-là ne peuvent être pris en considération, bien que leurs cas étudiés individuellement soient très intéressants (PONSE, WEIHS, LIBERT, DOVAZ 1954).

De ce fait le nombre des animaux est réduit à neuf. Leur examen histologique a été jugé satisfaisant et conforme aux images classiques.

a) *Les impubères.*

L'index nucléaire moyen est de 37,9 pour des ovaires dépourvus de tout corps jaune et ne présentant pas de gros follicules III mûrs.

La mucification des vagins est relativement prononcée. Il s'agit du pro-oestre prépubéral qui, chez les cobayes, peut être très prolongé en raison des crises d'atrésies massives dans l'ovaire.

TABLEAU III.

Stade du cycle des femelles adultes à l'autopsie

Stade	No de la femelle	Jour du cycle	i. n.	Observations
Fin pro-oestre	262	13e jour	37,1	le vagin est encore fermé
Fin oestre . .	395	3e jour	32,8	ovaires: trop d'atrésies (cf. texte)
Post-oestre . .	394	6e jour	35,6	
Di-oestre . . .	462	9e jour	40,9	vagins: fermés
	459	11e jour	37,6	vagins: fermés
	140 (4)	12e jour	39,9	vagins: fermés
Rut atypique .	465	3e jour	39,3	rut avorté
		moyenne:	37,7	

L'aspect des cornes utérines est également caractéristique: elles sont de petite taille, à glandes tassées: l'épithélium peu élevé, non frangé, n'a que peu de cinèses.

b) *Les adultes.*

Les sept femelles n'ont pas été toutes autopsiées au même moment du cycle, si bien que presque tous les stades sont représentés (cf. tableau III).

Bien que les poids relatifs des ovaires ne puissent servir que de critère secondaire, il faut tenir compte de leur poids moyen qui est de 12,7% (10,9% à 15,9%). Par contre, il est intéressant de comparer entre eux les différents index nucléaires (i. n.) dont la moyenne est de 37,7 (GUYÉNOT: 37,2). Il y a un léger abaissement au moment du rut, indiquant une faible hypertrophie du tissu interstitiel, début de réaction à l'hormone crinogène.

L'examen histologique montre une très bonne concordance entre l'état des ovaires d'une part et celui du tractus génital d'autre part, sauf dans un cas désigné comme « rut atypique ».

Fin pro-oestre (262): dans l'ovaire, trois follicules mûrs, et prêts à ovuler, voisinent avec un grand nombre (environ 17) d'autres en voie d'atrésie. Les trois corps jaunes du cycle précédent sont encore visibles, plus ou moins déformés et lipidiques.

Le vagin ne présente pas encore de desquamation mais est déjà stratifié, kératinisé, avec des franges muqueuses.

Les cornes utérines présentent un œdème chorial typique, un épithélium élevé, sans lipides, et quelques cinèses superficielles et dans les conduits.

Fin oestre (395): l'index nucléaire est bas (32,8), normal. Par contre, histologiquement, l'ovaire est en voie de devenir pathologique, kystique, mais encore sans répercussion sur le vagin à couches muqueuses et kératinisées (épiderme très stratifié, sans leucocytes), desquamé. Les cornes utérines non lipidiques présentent quelques cinèses.

Post-oestre (394): les corps jaunes frais sont nets, encore saillants et soudanophobes, alors que les atrésies sont chargées de lipides. L'ovaire contient quelques follicules III petits et moyens. L'index est intermédiaire entre le rut et le repos.

Le vagin, peu stratifié, se trouve en pleine diapédèse leucocytaire. Il y a des leucocytes à l'intérieur des cellules desquamées.

Dans les cornes utérines, les cinèses se rencontrent surtout dans les glandes profondes assez grosses et entourées d'œdème. Sous l'épithélium cavitaire, le chorion redevient dense (type Hooker-Forbes).

Di-oestre (140[4], 462, 459): les trois femelles sont parfaitement identiques. Dans les ovaires, les corps jaunes du dernier cycle sont déjà un peu déformés et soudanophiles. Parfois il y a encore des restes d'anciens corps jaunes très lipidiques. Les follicules III sont en pleine croissance.

Vagin et cornes utérines présentent l'aspect de repos, caractéristique du di-oestre.

La femelle 465 dont les derniers ruts étaient devenus de plus en plus courts, avait un ovaire kystique avec des méroxanthosomes et un trop grand nombre d'atrésies. Bien que l'aspect ovarien se soit rapproché de celui des hypophysectomisées, l'index nucléaire était resté presque normal (39,3); mais le rut vaginal était fortement atténué. La trop faible stimulation a diminué la stratification et la kératinisation.

2) Femelles de Cobayes hypophysectomisées

Dans cette série se trouvent réunies à la fois les femelles prévues comme témoins à la fin des expériences de 28 jours, ainsi que les femelles destinées à être injectées, mais dont la survie n'a pas dépassé quatre jours. Ceci explique le pourcentage élevé des femelles à courte survie. Ces femelles, mortes prématurément, m'ont permis de connaître le déroulement de l'involution en fonction du temps que subissent les animaux hypophysectomisés, involution étudiée surtout au niveau du tractus génital et plus particulièrement au niveau de l'ovaire. Ces animaux ont servi également à fixer l'âge et le poids minimum au moment de l'opération pour assurer une survie suffisante, ainsi que le délai nécessaire entre l'opération et le début des injections pour obtenir un ovaire encore capable d'être stimulé mais dont les follicules susceptibles de réagir sont déjà détruits.

En tout 13 femelles impubères et 43 jeunes adultes nullipares de trois à quatre mois ont été opérées; ces dernières à différents moments du cycle.

Deux cas de tumeurs intra-ovariennes ainsi que quatre reliquats hypophysaires (7%) certains sont à signaler.

Comme le but de cette série est de grouper des animaux servant de témoins hypophysectomisés, je n'ai pu tenir compte des femelles en mauvaise santé ou présentant des tumeurs intra-ovariennes, c'est-à-dire des états pathologiques suivis vraisemblablement de troubles hormonaux secondaires. Mes conclusions se basent donc sur:

a) 12 femelles, dont 8 impubères, mortes entre le premier et le troisième jour. Ceci indique déjà clairement la moindre résistance aux opérations des jeunes animaux;

b) 10 femelles, dont trois impubères, ayant survécu entre 4 et 10 jours;

c) 11 femelles, dont une impubère, et deux à reliquat hypophysaire certain, sacrifiées 20 jours et plus après l'opération.

(Voir aussi la figure 11.)

a) *Survie de 1 à 3 jours.*

Alors que l'état histologique du vagin et des cornes utérines correspond au stade du cycle sexuel trouvé à l'autopsie — aspect infantile chez les impubères et simple retard de quelques jours chez les adultes — et que le poids relatif des ovaires (13,5% en moyenne) n'a pas varié par rapport à celui des témoins non opérés, ce n'est que l'étude histologique des ovaires qui révèle le changement foudroyant apporté par l'hypophysectomie.

Déjà après 24 heures, a lieu, indifféremment chez les impubères, prépubères et adultes, une atrésie massive de la granulosa laissant des follicules moyens et petits plus ou moins normaux en nombre nettement abaissé. La valeur de l'index nucléaire passe rapidement à 43,4 en moyenne (34,4 à 50,6). L'absence d'hormones gonadotropes se fait donc sentir très nettement déjà en quelques jours au niveau des tissus sécréteurs ovariens qui s'atrophient et se vident lentement de leur contenu hormonal et permettent le maintien provisoire de la stimulation périphérique qui va en s'affaiblissant. Les autres éléments ovariens tels que corps jaunes et réserve folliculaire ne sont pas atteints. La coloration au Soudan

montre que les atrésies contiennent peu de lipides soudanophiles sous forme de fins microliposomes, alors que les ovocytes en dégénérescence en sont farcis. La soudanophilie est plus prononcée chez les femelles âgées que chez les impubères.

b) *Survie de 4 à 10 jours.*

L'abaissement du poids des ovaires est amorcé (12,7% en moyenne: de 8,6% à 18,25%) et l'index nucléaire qui s'élève en moyenne à 49,8 dépasse toujours 41,9 et atteint même 60,2. Il est clair que chez les adultes il y a un effet additif entre la valeur de l'index nucléaire au moment de l'opération et l'atrophie qui s'accroît avec la durée de survie, c'est-à-dire l'élévation du chiffre de l'index.

A l'examen histologique, on note de moins en moins de follicules III, certains ovaires même ne présentent plus que des follicules II. De plus, la soudanophilie des atrésies diminue, ce qui indique une chute de sécrétion des précurseurs des stéroïdes. D'ailleurs on rencontre des « wheel cells » à noyaux pycnotiques. Quant aux corps jaunes ils persistent. On retrouve de vieux corps jaunes chargés de lipides et des récents plus ou moins soudanophiles (liposomes dégénératifs).

Au niveau du vagin, l'on observe deux phénomènes apparemment contradictoires. Chez les animaux adultes qui, au moment de l'autopsie, auraient dû se trouver en pro-oestre, les faibles taux de stéroïdes encore présents ne suffisent plus à stimuler le vagin aux 9e ou 10e jours de survie. Cependant le 4e jour — encore le 6e chez les impubères — a lieu une mucification vaginale provenant vraisemblablement d'une élévation d'oestrogènes momentanée et attribuée à la destruction massive des follicules, donc à une résorption de la liquor folliculi. Ce phénomène (déjà signalé par Guyénot, Held, Ponse en 1938) ne s'étend toutefois pas aux cornes utérines dont le seuil de sensibilité est plus élevé. En fait les cornes utérines subissent une mise au repos. L'épithélium plat se plisse consécutivement à la diminution de la taille de l'organe, plissement qui ne doit pas être confondu avec les « franges » à épithélium élevé lors de fortes stimulations.

c) *survie de plus de 20 jours avec et sans reliquat.* (fig. 9, 10)

Les ovaires des femelles adultes sans reliquat hypophysaire présentent, après 28 jours de survie, l'aspect classique des suites

de l'hypophysectomie, à savoir un rete ovarii plus ou moins kystique, une atrésie généralisée et très peu soudanophile; le nombre

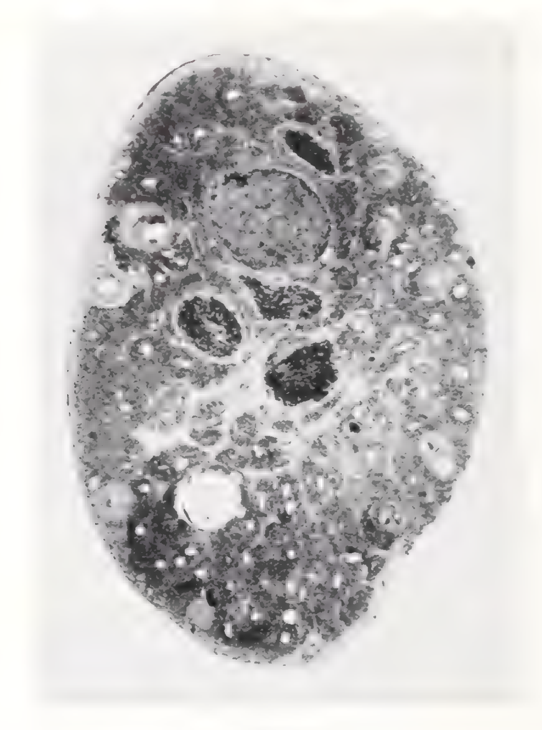


Fig. 9.

Femelle 442. — Opérée à l'âge de 26 semaines; survie de 34 jours. Persistance d'un corps jaune frais, très peu soudanophile, 45 jours après la dernière ouverture vaginale, et de quatre vieux corps jaunes résiduels très soudanophiles (× 20).
On a découvert un très petit reliquat de pars tuberalis. — Rosenbusch-Weihs, Ponse 1957.

des follicules jeunes est réduit. Par contre, la persistance et l'allure fonctionnelle des corps jaunes du dernier rut, ainsi que les restes

---

Fig. 10.

Femelle 73. — Opérée à l'âge de 6 semaines; survie de 35 jours. L'ovaire (i.n. = 48,9), de petite taille, est complètement atrésié, avec deux corps jaunes persistants. Les cornes utérines et le vagin sont au repos.

Femelle P 8. — Opérée à l'âge de 27 semaines et demie; survie de 51 jours. Les deux ovaires (70 mg; i.n. = 59,8) ne réagissent pas nécessairement de la même manière: l'un est très kystique, l'autre possède encore quelques très petits follicules.
Le tractus présente l'aspect d'aplasie classique.


73
P8

de très vieux corps jaunes complètement déformés et lipidiques frappent. Il s'agit ici de liposomes de dégénérescence (fig. 9). Pour tout le groupe le poids relatif moyen des ovaires est de 8,2% (5,1% à 13,2%) et l'index nucléaire moyen de 54,5 (40,1 à 63,4). Ce dernier ne semble pas nécessairement influencé par la présence de reliquats hypophysaires (un cas de pars tuberalis à 40,1 alors qu'avec un reliquat de pars anterior net l'index est de 61,1!). La présence d'un reliquat hypophysaire ou d'une pars tuberalis occasionnellement active se traduit principalement par la présence d'un grand nombre de follicules moyens dans un ovaire atrésié, parfois un peu plus soudanophile. C'est donc l'aspect ainsi que le nombre des follicules qui constituent le critère le plus sûr pour déceler une sécrétion gonadotrope, toujours folliculo-stimulante et non crinogène, provenant d'une reprise même tardive du tissu hypophysaire résiduel. (Jacobsohn 1954; Billenstein, Leveque 1955) Au niveau du tractus génital on note une régression et une mise au repos totale avec aplasie. Le vagin est en di-oestre et les cornes utérines ont un aspect infantile.

d) *Conclusions.*

Priver un animal de son hypophyse signifie le priver de toute une série d'hormones dites « stimulines » qui sont nécessaires à l'activité des autres glandes endocrines. Cette suppression conduit à l'abaissement progressif, puis à l'insuffisance grave des hormones sécrétées par les surrénales, les thyroïdes, etc., ce qui compromet automatiquement la survie par suite des troubles profonds et graves des différents métabolismes.

Si la présence d'hormones gonadotropes n'est pas indispensable à la vie, les effets secondaires de leur absence correspondent partiellement à une castration physiologique, puisque l'ovaire ne sécrète pratiquement plus ni oestrogènes, ni progestérone, sauf en cas de corps jaunes persistants. La valeur limite stable, excessivement basse, retrouvée lors des dosages des métabolites urinaires serait due aux hormones stéroïdes d'origine surrénalienne. A ce sujet, il est intéressant de citer le travail de Ingram et Mandel (1958 b) effectué sur des Rats.

Les auteurs ont pu démontrer la persistance d'oestrogènes chez les femelles hypophysectomisées retardant l'involution des cornes utérines. L'ablation ultérieure des gonades provoque alors une

involution accélérée profonde, prouvant simultanément qu'il ne s'agissait pas de stéroïdes surrénaliens comme chez la Souris.

Le tractus génital se trouve très rapidement mis en repos; son aspect pseudo-infantile, aplasié, en fait foi.

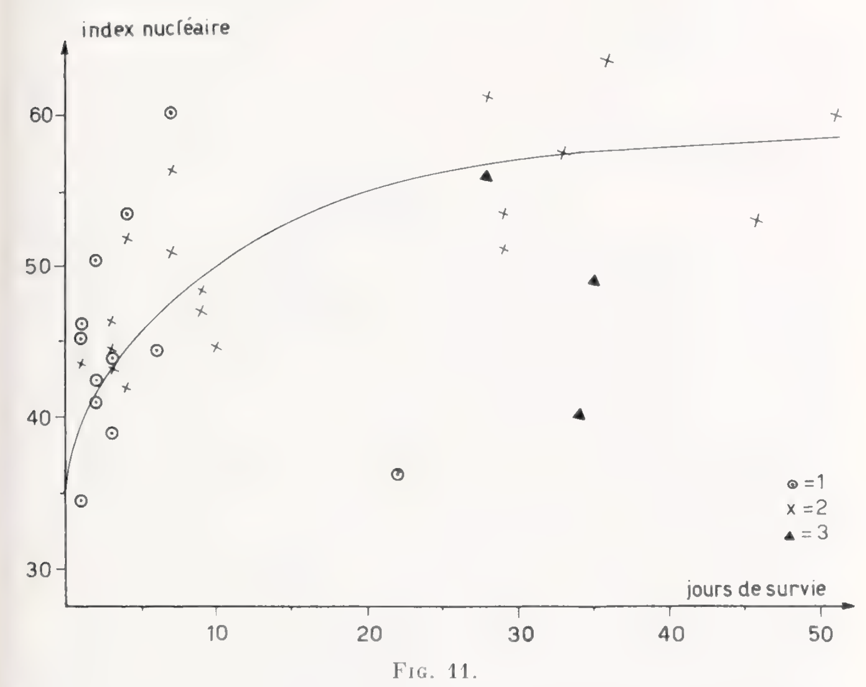


Fig. 11.

Rapport entre la survie des femelles de Cobayes après hypophysectomie et l'index nucléaire ovarien, en tenant compte de l'âge à l'opération. 1 = impubère; 2 = adulte; 3 = adulte avec reliquat.

Mais c'est au niveau de l'ovaire que les suites de l'hypophysectomie se révèlent intéressantes: déjà après 24 heures, l'index nucléaire monte au-dessus de 42 et mesure l'atrophie immédiate du tissu interstitiel. Cette atrophie, très prononcée quelques heures après l'opération, va s'accentuant dans les quelques semaines qui suivent, parallèlement à la décharge des lipides soudanophiles.

L'index nucléaire croît donc en fonction de la survie et semble tendre vers une valeur limite (fig. 11).

Ces valeurs semblent être un peu abaissées lorsque l'ovaire contient une tumeur fonctionnelle (action locale) ou lorsqu'il y a un reliquat hypophysaire (faible stimulation globale).

Les éléments folliculaires en croissance subissent une atrésie rapide, libérant de façon passagère leurs stéroïdes (cf. pro-oestre fugace du vagin). Seule la réserve de follicules primordiaux résiste bien.

S'il s'agit d'une femelle adulte, les corps jaunes ne disparaissent pas immédiatement. Au contraire, il semble qu'en l'absence des hormones gonadotropes injectées leur dégénérescence soit ralentie, si bien qu'on en retrouve encore 45 jours et plus après l'opération.

Il faut cependant reconnaître que cette mise au repos total de l'ovaire n'est ni définitive ni irréversible. Des expériences ont démontré que, même 33 jours après l'hypophysectomie, un traitement par les hormones gonadotropes est susceptible de provoquer une réaction positive du tissu interstitiel, éventuellement même de quelques follicules jeunes. Mais en ce qui concerne les expériences relatées dans ce travail, le temps de latence entre l'hypophysectomie et la première injection avait été fixé entre 4 et 12 jours. Cependant, peut-on réellement affirmer que seule l'absence des hormones gonadotropes est à l'origine de l'atrésie massive et foudroyante que subit l'ovaire? Plusieurs auteurs ont exploré la glande pinéale et sa physiologie, soit par injections d'extraits épiphysaires, soit par l'ablation de cet organe. (Moszkowska 1951; Simonnet et coll. 1951, 1954; Kitay et Altschule 1954).

Ces chercheurs ont pu établir l'existence de certaines relations entre l'hypophyse et l'épiphyse en ce sens que cette petite glande, longtemps négligée, intervient dans la puissance de l'activité des gonadotropines en freinant la stimulation des gonades. En d'autres termes: l'injection d'extraits pinéaux — tout comme l'hypophysectomie — cause une atrésie ovarienne, alors que l'épiphysectomie entraîne chez des animaux infantiles une puberté précoce par la rupture du freinage de la réaction des gonades aux hormones les stimulant.

Chez les Rats la glande pinéale resterait active pendant toute la vie. Chez les Cobayes, son action, touchant plus spécialement le facteur crinogène, cesserait à la longue à l'âge adulte. (Moszkowska 1947).

Dans le présent travail l'épiphyse ne sera pas prise en considération; mais je désirais attirer l'attention sur le fait qu'en plus de l'équilibre « ovaire-hypophyse » il existe encore celui de « hypophyse-épiphyse » se jouant au niveau de l'ovaire. Pourquoi ne

pas admettre que, dans un certain nombre de cas inexplicables de femelles réfractaires, il faut incriminer cette autre glande endocrine voisine du cerveau?

CHAPITRE III. LES DOSES FAIBLES

IIIa. Injections de 10 U.I. par jour

1) *Sur femelles de Cobayes normales*

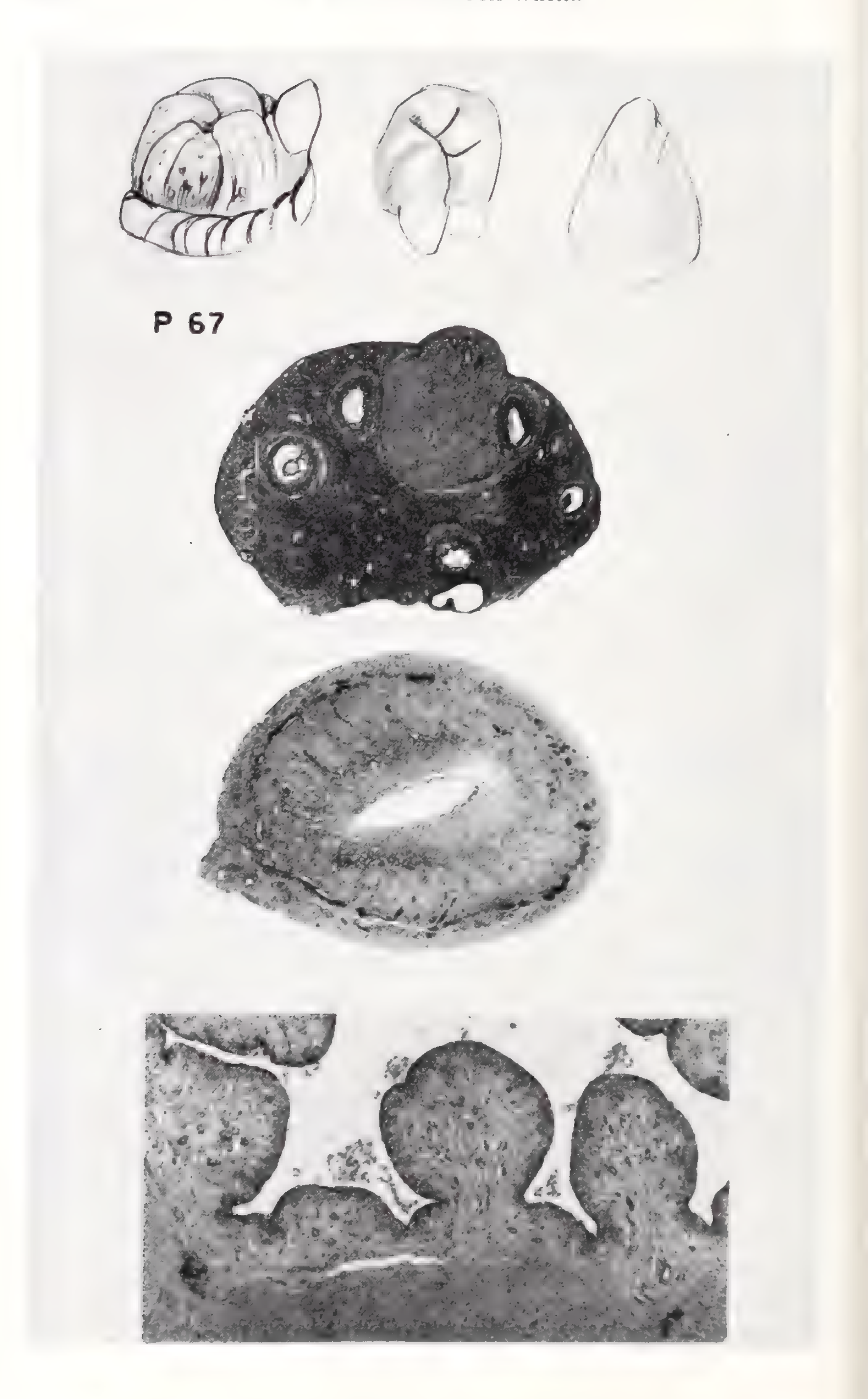
a) *20 ou 21 injections* (fig. 12, 13).

Six femelles provenant de deux élevages différents ont été utilisées pour cette série faite en deux fois. Agées d'environ 4 à 5 mois, deux femelles pesaient 435 g (P39, P41) et les autres en moyenne 695 g (635 g à 750 g). Les cycles observés avant tout traitement étaient parfaitement normaux et les femelles ont été injectées pour la première fois au moment du di-oestre, la dose relative initiale (DRI) étant de 2,3 U.I. par 100 g, respectivement de 1,44 en moyenne (femelles plus grosses).

Masculinisation et hyperféminisation:

Les premiers signes de la virilisation apparaissent assez tardivement vers la 14e et la 15e injection. Après trois semaines, la masculinisation est restée extrêmement faible de façon générale. Le clitoris est peu développé, à dévagination variable, parfois tout juste ébauchée. Les crochets sont toujours petits (1 mm), à peine détachés chez les femelles à dose relative initiale basse et dont la masculinisation est la moins prononcée (P 45, P 66). Les odontoïdes font toujours défaut.

Par contre, l'hyperféminisation est forte et inversement proportionnelle au degré de masculinisation, sauf pour deux femelles (P 67, P 71) à petits mamelons chez lesquelles l'état normal des cornes utérines et la présence de corps jaunes dans l'ovaire laissent supposer qu'elles étaient en post-oestre et di-oestre typiques. Il ne semble pas s'agir de femelles réfractaires, mais bien d'animaux ayant retrouvé rapidement leur état physiologique normal. Les mamelons des autres femelles sont gros, turgescents sans toutefois sécréter de collostrum malgré leur aspect croûtelleux.


P 67

Examen histologique :

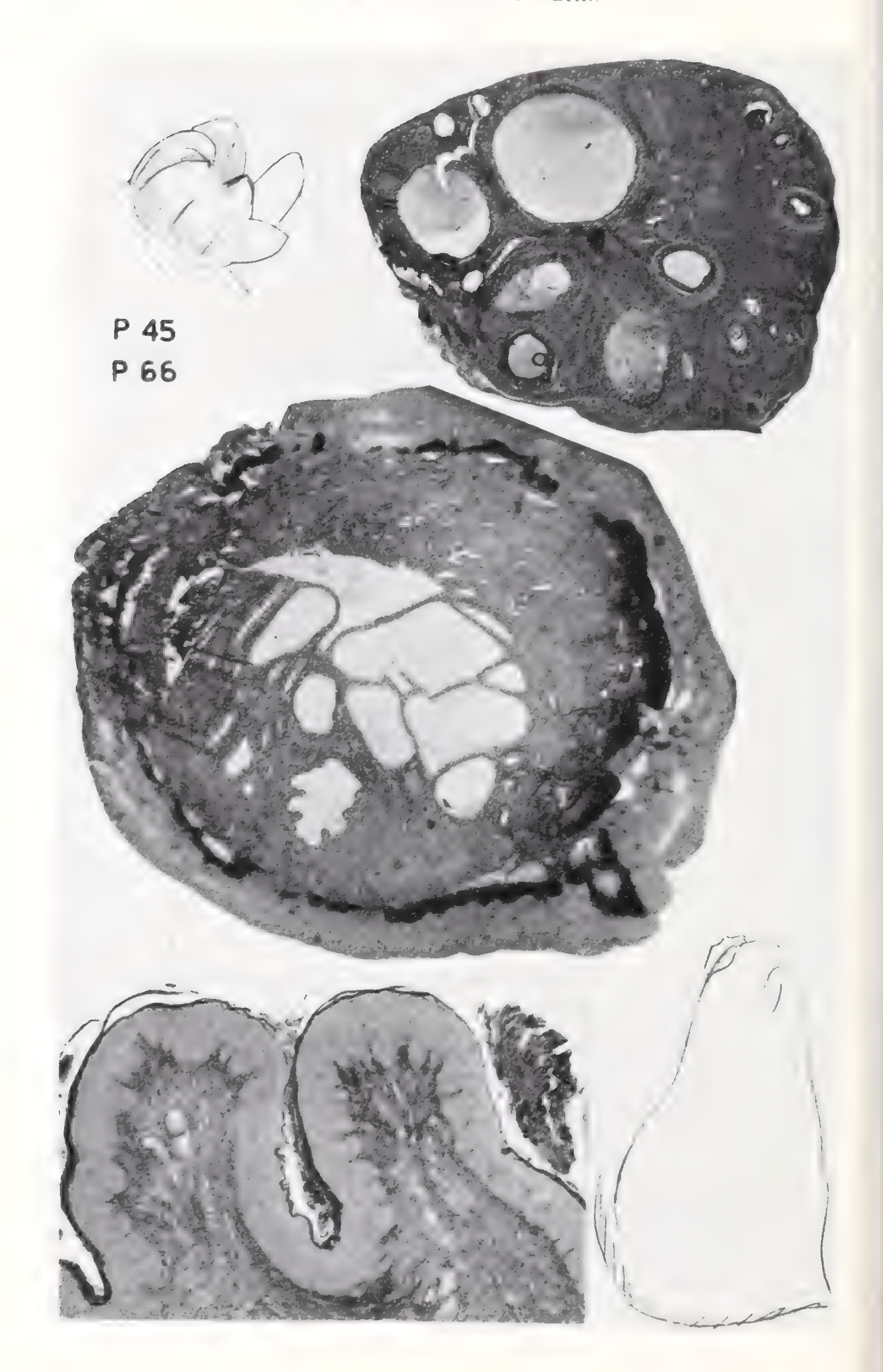
A l'exception des ovaires kystiques (P 71) (198 mg), les gonades des femelles plus jeunes (P 39, P 41) ayant reçu une dose relative initiale élevée pèsent en moyenne 125 mg, contre 88 mg pour les autres femelles à dose relative initiale plus basse (P 66, P 45, P 67). Les index nucléaires ont été difficiles à mesurer en raison de la faible quantité de tissu adéquat disponible. Leur valeur oscille entre 20,8 et 32,1 ; elle n'atteint jamais la normale (moyenne: 28,5). Le fait de retrouver des chiffres plus élevés chez les femelles présentant une faible masculinisation semble être significatif.

L'accoutumance au facteur erinogène très avancée a permis à la réaction acmogène hypophysotrope de se manifester sans être complètement masquée. Il y a donc eu croissance physiologique de quelques follicules III mûrs qui, sous l'action de l'hormone lutéinisante exogène, deviennent prélutéiniques. D'autres follicules en croissance se transforment en méroxanthosomes (P 45). Comme il s'agit d'éléments sécréteurs de stéroïdes, leur présence retentit sur le vagin et les cornes utérines. Il faut encore noter les atrésies relativement erinogènes, alors que les thèques ne le sont pas. Seules les deux femelles déjà signalées à propos des mamelons possèdent des corps jaunes récents accompagnés de follicules hémorragiques (P 67). D'ailleurs leur vagin, aussi bien que les cornes utérines, sont en post-oestre et en di-oestre. La cavité utérine est rectiligne et l'épithélium contient des lipides soudanophiles. Il est évident que les conditions extra-physiologiques finissent par aboutir à de tels déséquilibres hormonaux entre la sécrétion d'oestrogènes, de progestérone et d'androgènes, qu'ils entraînent un état atypique « pathologique » des autres organes du tractus génital.

Les décharges subites, exagérées et souvent prolongées d'oestrogènes provoquent, soit des ruts vaginaux très courts, répétés et extrêmement rapprochés, soit au contraire des ouvertures vaginales

Fig. 12.

Femelle P 67. — Autopsiée à l'âge de 22 semaines ; 21 injections de 10 U.I (type I).
L'ovaire (84 mg ; i.n. = 30,4) possède un corps jaune saillant
Les cornes utérines ont été stimulées en profondeur. Le vagin se trouve en met-oestre.


P 45
P 66

prolongées de 8, 9 et même 11 jours. Dans deux cas on a observé au début du traitement, au moment-même où le prochain rut normal aurait dû avoir lieu — un rut coupé: cela, parce que le facteur crinogène injecté dépassait nettement la quantité d'auxogène endogène. L'hormone gonadotrope injectée empêchait de ce fait la sécrétion d'oestrogènes et stimulait celle de la progestérone. Le traitement a déséquilibré les proportions de ces deux stéroïdes qui agissent en synergie sur les cornes utérines et exercent leur action antagoniste au niveau du vagin, permettant une très grande marge de réactions individuelles.

En fait, au moment de l'autopsie, presque tous les stades du cycle sont représentés, parfois sous forme atypique: stratification nulle ou irrégulière, hypermucification, etc. Les cornes utérines ont subi une stimulation excessive. Elles sont énormes, hypervascularisées, frangées, à tendance polypeuse. Surtout, elles sont toutes glandulo-kystiques à épithélium élevé, ce qui a été démontré comme résultant d'un déséquilibre entre les facteurs folliculo-stimulants et lutéinisants, donc entre oestrogènes et progestérone (follicules prélutéiniques, et pas de vrais corps jaunes). Seules les deux femelles (P 67, P 71) possédant des corps jaunes ont des cornes utérines non glandulo-kystiques.

b) *31 injections* (fig. 14).

Constatant la faible masculinisation obtenue, j'ai prolongé le traitement à 31 injections (P40), espérant obtenir un développement plus poussé du clitoris. Mais au contraire, non seulement le clitoris ne s'est pas mieux développé, mais il y a eu une nette régression en fin d'expérience. Les mamelons sont restés gros.

FIG. 13.

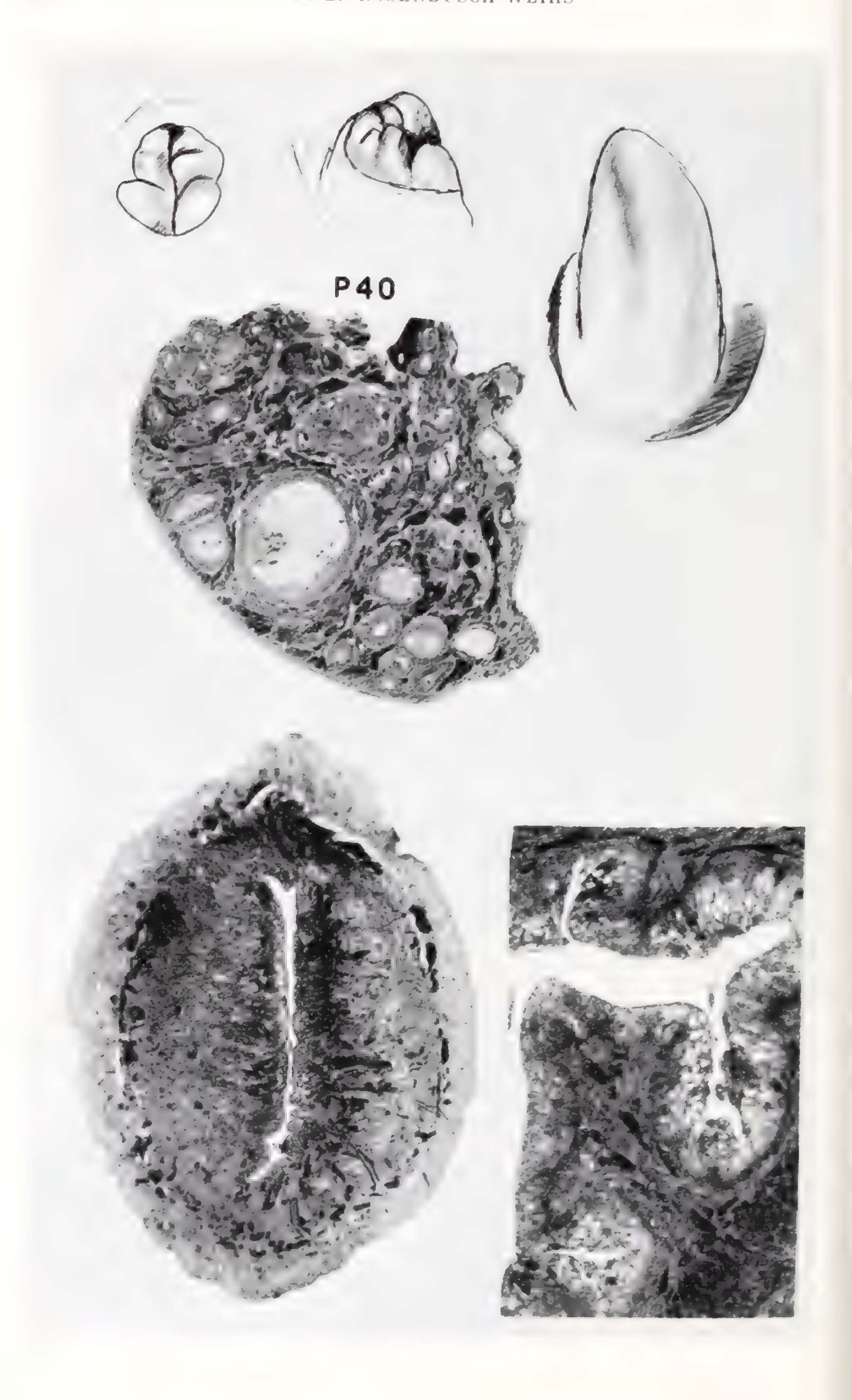
Femelle P 45. — Autopsiée à l'âge de 31 semaines et demie; 21 injections de 10 U.I. (type II).

La masculinisation est faible, l'hyperféminisation nette.

L'ovaire (98 mg; i.n. = 28,6) est partiellement accoutumé. Il possède des méroxanthosomes, parfois kystiques, et quelques follicules prélutéiniques.

Femelle P 66. — Autopsiée à l'âge de 22 semaines et demie; 20 injections de 10 U.I. (type II).

Les cornes utérines sont énormes, glandulo-kystiques. Le vagin présente un rut physiologique avec une stratification importante et une kératinisation relativement faible.


P40

L'ovaire, ne pesait plus que 60 mg et contenait un gros follicule mûr à tendance prélutéinique. L'index nucléaire était remonté à 33,1, chiffre le plus élevé de cette série. Au niveau du tractus, les cornes utérines, presque normales, ont réagi différemment du vagin dans lequel plusieurs stades semblent chevaucher.

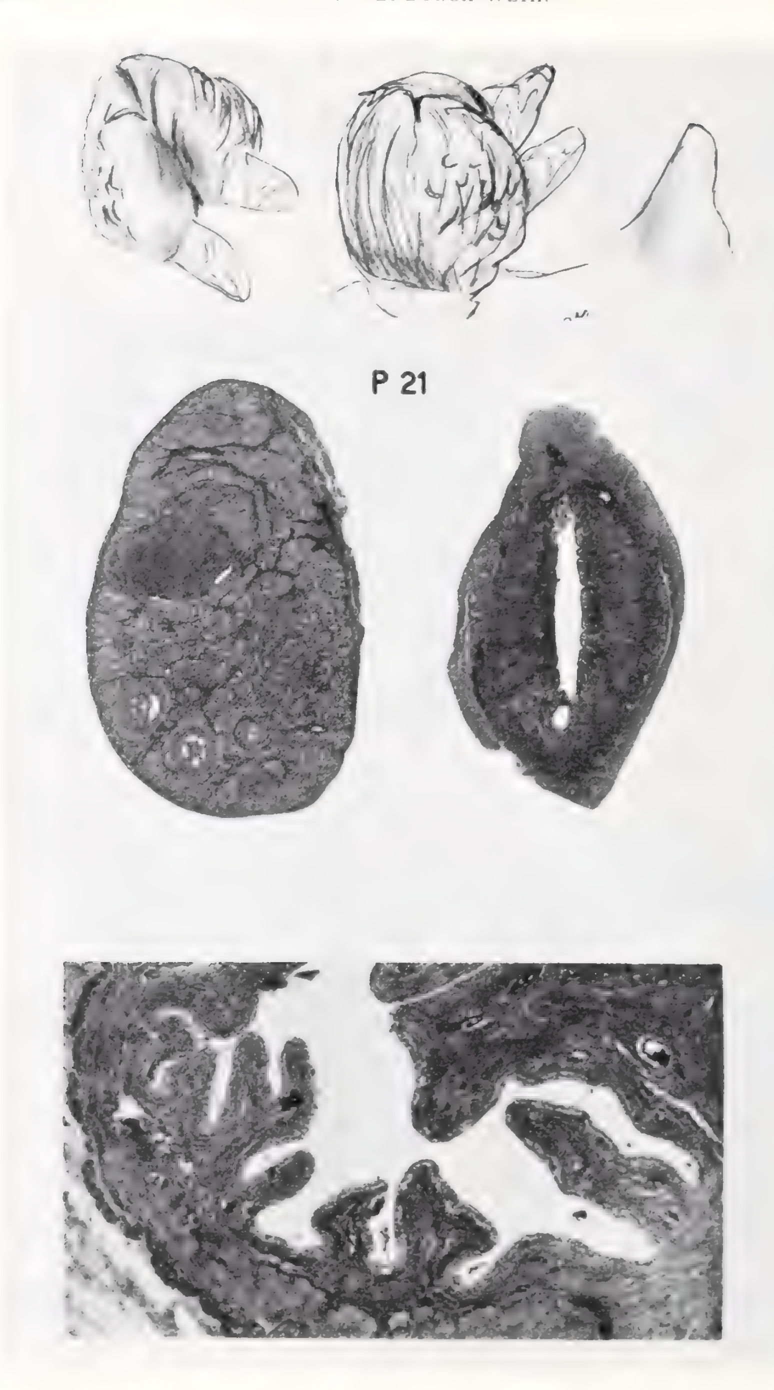
c) *Conclusions.*

Au cours du traitement, la virilisation, faible dans toute la série, se fait tardivement. L'unique femelle, dont le traitement prolongé aurait dû permettre une plus forte masculinisation, présente au contraire une régression en fin d'expérience. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le tissu interstitiel ovarien est partiellement accoutumé à l'hormone lutéinisante et cela relativement tôt à ce qu'il semble, d'où faible sécrétion d'androgènes. D'autre part, les ovaires montrent une réaction acmogène nette. Il y a donc simultanément une forte quantité d'hormones folliculo-stimulante endogène et crinogène exogène, d'où déséquilibre entre la sécrétion des oestrogènes et de la progestérone. Voilà la raison de l'hyperféminisation aberrante sous forme de développement des mamelons et des ouvertures vaginales fréquentes ou prolongées. Cette hypothèse trouve sa confirmation dans la comparaison suivante: un index nucléaire élevé, la présence de corps jaunes dans un ovaire, ainsi qu'un état presque normal des cornes utérines et des mamelons — ou, au contraire, un index nucléaire plus bas dans des ovaires contenant de vieux corps jaunes et des follicules prélutéiniques, des cornes utérines énormes, glandulo-kystiques et des mamelons turgescents.

La réaction périphérique que j'observe n'est donc que la résultante de différents facteurs — stimulants ou inhibiteurs — agissant sur le même territoire. Il est évident que, dans ces conditions, la réponse ne saurait être nette, incontestée et invariable. Par l'hypophysectomie il sera alors possible de supprimer un certain nombre de ces facteurs.

Fig. 14.

Femelle P 40. — Adulte: 31 injections de 10 U.I. La masculinisation a régressé.
L'ovaire (60 mg; i.n. = 33,1), accoutumé et de petite taille, possède des follicules III à tendance prélutéinique.
L'état vaginal est atypique.


P 21

2) *Sur femelles de Cobayes hypophysectomisées*

a) *Entre 18 et 20 injections* (fig. 15).

Au moment de l'opération les six Cobayes (P 38, P 57, P 62, P 51, P 21, P 59), tous des femelles adultes, étaient en di-oestre (9e à 13e jour) et pesaient en moyenne 430 g, sauf une qui atteignait 520 g (P 59). La première injection a été faite 7 à 12 jours après l'hypophysectomie. Dans un cas (P 59) l'intervalle fut de 33 jours afin d'oberver les suites de la stimulation d'un ovaire complètement atrésié.

Masculinisation et hyperféminisation:

Il est frappant de constater que, si toutes les femelles se sont masculinisées vers la 11e ou 12e injection, et si les crochets étaient toujours petits, mais bien formés, il y a une différence nette entre le groupe d'été et le goupe d'hiver [1]. La virilisation des deux femelles (P 21, P 38) traitées en été est forte: clitoris bien dévaginable portant quelques odontoïdes latéraux. Celle des quatre autres femelles (P 57, P 62, P 51, P 59) du groupe d'hiver est faible: clitoris mal dévaginable n'ayant pas d'odontoïdes.

Quant aux mamelons, ils sont petits et flasques chez toutes les six femelles, prouvant l'absence de féminisation.

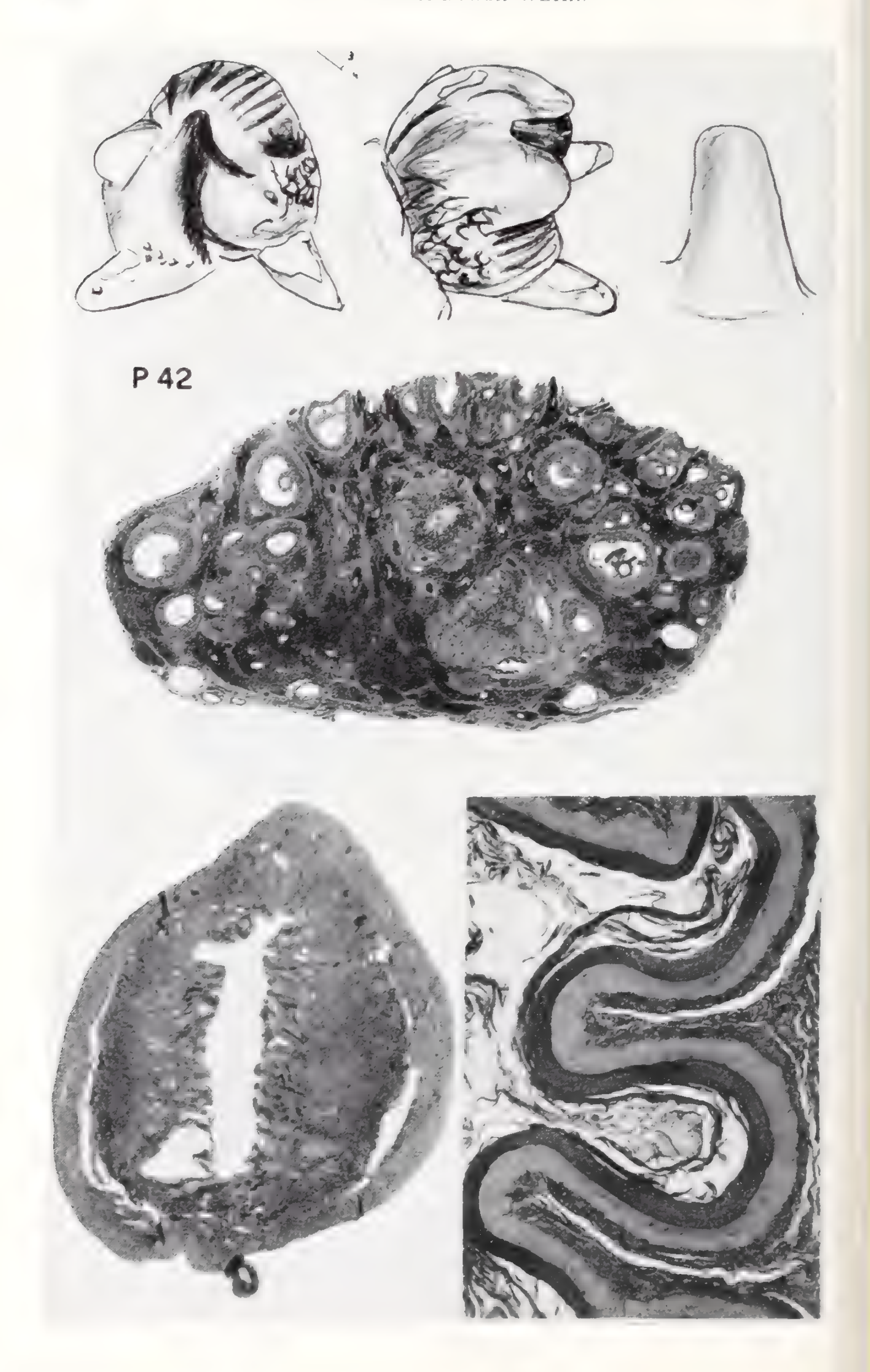
Cependant, la différence de comportement entre les deux groupes d'expériences se retrouve dans l'histologie des ovaires, la masculinisation n'étant qu'un effet secondaire des hormones injectées.

[1] Ces femelles ont reçu une nourriture trop riche, ayant fait grossir de façon exagérée les animaux, tout en déséquilibrant leur métabolisme (augmentation pondérale énorme chez des hypophysectomisées) et provoquant une chute spectaculaire des stéroïdes urinaires. Corrélativement, la masculinisation est trop faible!

FIG. 15.

Femelle P 21. — Opérée à l'âge de 12 semaines et demie; repos de 8 jours; 20 injections de 10 U.I.

La masculinisation est bonne, les mamelons minuscules. L'ovaire (95 mg; i.n. = 21,3) est entièrement hépatisé et accoutumé. Quelques follicules intacts sont encore présents ainsi que des corps jaunes persistants. Le tractus est au repos, en di-oestre (un petit kyste glandulaire dans une corne utérine).


P 42

Examen histologique :

Le poids relatif des ovaires des femelles traitées en été (P 38, P 21) — en moyenne 24 %₀, contre 6,1 %₀ en hiver — ainsi que l'index nucléaire de 21,3 (P 21) et de 20,3 (P 30) trahissent déjà la forte stimulation crinogène. Il n'y a plus de follicules III en voie de maturation, tout au plus quelques follicules moyens et pleins. En revanche, la soudanophilie généralisée est forte. Les ovaires, partiellement hépatisés, contiennent des corps jaunes persistants et un rete plus ou moins kystique.

En ce qui concerne les autres femelles (P 57, P 62, P 51, P 59), les index nucléaires ont été très variables: plus bas (30,6) lors des latences de 9 à 12 jours avant le traitement, plus élevés (39,5) lors de la latence de 33 jours. L'explication est facile à donner: Si les traitements sont de mêmes durées, les conditions ne sont pas identiques en ce sens que la première dose agit sur un ovaire plus ou moins atrésié; et cette différence initiale ne semble pas s'effacer.

Malgré cela les quatre femelles présentent la même image histologique. Il n'y a pas de véritable hépatisation, mais des atrésies massives soudanophiles avec une forte accoutumance. Le rete est presque toujours faiblement kystique et les follicules persistants sont petits.

Au niveau du tractus génital, il n'y a pas de différence entre les deux groupes. Les cornes utérines, ainsi que le vagin, fermé depuis 36 à 44 jours, se trouvent en repos complet. L'ovaire n'a donc sécrété véritablement que des androgènes à des taux non excessifs.

b) *29 injections* (fig. 16).

Dans un cas (P 42), la durée du traitement a été prolongée à 29 injections pour accentuer la masculinisation. Toutes les condi-

---

Fig. 16.

Femelle P 42. — Opérée à l'âge adulte; repos de 7 jours; 29 injections de 10 U.I. La masculinisation s'est maintenue, la stimulation mammaire est faible. L'ovaire (120 mg; i.n. = 35,1) est complètement accoutumé. On note la présence de vieux corps jaunes et la croissance simultanée d'un grand nombre de follicules, arrivant au stade de petits follicules III à l'autopsie. Cette croissance folliculaire a provoqué une stimulation des cornes utérines (franges, épithélium élevé) et un rut vaginal complet.

tions d'expérience ont été pareilles à celles du groupe d'été. L'évolution de la virilisation a été identique pendant les trois premières semaines, mais n'a pas progressé après.

Par contre les mamelons, flasques et petits après 20 injections, ont subi une stimulation vers la fin, ce qui les a rendus arrondis et droits.

L'index nucléaire des ovaires, dont le poids relatif est de 26,4 %, est remonté à 35,1 et se rapproche de la valeur normale. On a dépassé le stade de la simple accoutumance au facteur crinogène, et on se trouve en présence de nombreux follicules en pleine croissance à la suite de l'action nette d'un facteur folliculo-stimulant. Il en est résulté la sécrétion d'oestrogènes entrainant un plein rut vaginal, ainsi qu'une forte stimulation des cornes utérines, qui sont devenues grosses, vascularisées, frangées et même plus ou moins glandulo-kystiques.

c) *Conclusions.*

Dans l'ensemble, la masculinisation a lieu tardivement, mais comparée à la série précédente sur femelles normales, elle est plus forte et débute quelques jours plus tôt. A cette dose de 10 U.I. par jour — et sur femelles hypophysectomisées — le but du présent travail est partiellement réalisé: c'est-à-dire l'obtention de tissu hépatisé crinogène dans un ovaire peu accoutumé, en l'absence de méroxanthosomes et de follicules sécrétant des oestrogènes. Cependant la masculinisation est encore trop variable d'une bête à l'autre et il parait nécessaire d'augmenter la dose d'hormones injectées. Tout se passe comme si l'on se trouvait trop près du seuil de réaction et surtout en présence d'une accoutumance trop rapide due aux faibles quantités d'hormones crinogènes injectées. L'augmentation du temps de latence post-opératoire n'empêche pas l'accoutumance. Une prolongation du traitement n'amène pas non plus l'amélioration désirée. Si la masculinisation ne régresse pas comme dans le cas de la femelle normale ayant reçu 31 injections, en présence d'hypophyse, il y a pourtant un facteur folliculo-stimulant qui se fait sentir à la longue. S'agit-il d'une hormone endogène? Je n'ai pas retrouvé de reliquats hypophysaires, mais seulement la tige restée dans la tente. Il faut alors envisager la possibilité d'action de l'hormone folliculo-stimulante gravidique hypophysaire à doses cumulatives, exerçant

librement son action à la suite de l'accoutumance au facteur crinogène chorionique sur un ovaire suffisamment sensibilisé par un traitement chronique de gonadotropines.

Il me semble important de souligner que ce n'est pas seulement la dose totale injectée qui importe, ni la durée totale des traitements, mais bien un juste équilibre entre les deux pour que l'hormone hypophysaire gravidique folliculo-stimulante se manifeste après une accoutumance qui semble nécessaire.

En ce qui concerne la différence de comportement entre le groupe d'hiver et le groupe d'été, tout laisse croire à un abaissement du seuil de sensibilité du système génital en hiver. Faut-il incriminer uniquement le régime alimentaire (pas d'herbe fraiche, etc.) qui met les animaux dans un état de santé légèrement déficient avec répercussion sur tout l'organisme, ou ne faut-il pas mettre cette différence de réaction aussi et surtout en rapport avec le fait qu'en été les animaux se trouvent en pleine saison de reproduction? Les deux facteurs sont vraisemblablement liés l'un à l'autre déjà dans la nature, et leur effet cumulatif a été accentué par l'emploi d'une nourriture inadéquate.

Depuis, PERRET et HUGGEL, travaillant sous la direction de PONSE (1957 1958) ont pu démontrer une déficience saisonnière progressive de l'hypophyse, responsable de l'abaissement de la sécrétion des stéroïdes ovariens et surrénaliens.

IIIb. INJECTIONS DE 20 U.I. PAR JOUR

1) *Sur femelles de Cobayes normales*

a) *20 injections* (fig. 17).

Cette série d'expériences a été entreprise en été avec trois femelles d'environ trois mois et pesant 450 g (P 110) ou 495 g (P 101, P 99). Elles ont reçu la première injection alors qu'elles étaient en début de di-oestre.

Masculinisation et hyperféminisation :

Vers la huitième injection déjà, on observe les premières manifestations d'une virilisation qui est nette à la 11[e] injection. Au moment de l'autopsie, les clitoris sont bien dévaginés avec des


P101

odontoïdes latéraux plus ou moins nombreux. Les mamelons sont tous restés très petits, non stimulés ce qui s'explique par la présence de corps jaunes dans l'ovaire.

Examen histologique :

Les index nucléaires sont très élevés et variables — 27,3 (P 101) — 29 (P 99) — 33 (P 110) — et la masculinisation est la plus prononcée chez la femelle dont le poids ovarien est le plus élevé, contenant donc le plus de tissu actif, malgré un index nucléaire de 33. Le tissu interstitiel, très soudanophile à l'autopsie, prouve qu'il y a eu accoutumance au facteur crinogène. D'autre part les ovaires possèdent des corps jaunes accompagnés d'un nombre exagéré de follicules III normaux, non prélutéiniques. Cependant, les ovaires présentent un aspect pouvant être qualifié encore de physiologique, bien qu'on soit à la limite extrême de l'équilibre hormonal. Mais les premiers signes de déséquilibre se manifestent au niveau du vagin. Les cycles sont plus courts et à l'autopsie, le 7e, 8e et 11e jour, on retrouve les restes non évacués d'un dernier rut, enfermés dans un vagin en général en post-oestre.

Les cornes utérines semblent normales, en post-oestre caractéristique : les glandes sont tassées, l'épithélium est peu élevé à lipides soudanophiles, et le myomètre périphérique est très fortement vascularisé.

Il faut toutefois signaler que chez une femelle dont le vagin est en « di-oestre à trous », on aperçoit une glande fortement dilatée « prékystique » dans une corne utérine. Ce sont là deux signes précurseurs de troubles hormonaux naissants.

b) *Conclusions.*

La virilisation finale des femelles de Cobayes recevant la dose totale de 400 U.I. a été forte. Elle a commencé à la huitième injection, délai souvent observé par différents auteurs. Il me semble important d'attirer l'attention sur l'absence de toute

---

Fig. 17.

Femelle P 101. — Autopsiée à l'âge de 17 semaines; 20 injections de 20 U.I. L'ovaire (100 mg; i.n. = 27,3) est fortement accoutumé. L'action folliculo-stimulante est nette, avec répercussion surtout au niveau du vagin. Le tractus est en post-oestre.

hyperféminisation consécutive. L'index nucléaire n'a été que faiblement abaissé par rapport à la normale. Le tractus, lui, ne paraît pas avoir été beaucoup modifié par des effets secondaires du traitement. En effet: les femelles ont retrouvé leur état physiologique avec formation de corps jaunes dans l'ovaire, parce que les facteurs folliculo-stimulants et lutéinisants circulaient dans des proportions justes (ces faits ont été confirmés dernièrement par les résultats obtenus par PERRET dans les laboratoires de l'Institut).

Il s'est établi un état d'équilibre hormonal pseudo-physiologique, aussi bien du côté des stéroïdes que des hormones gonadotropes. Le grand nombre de follicules n'est pas dû à un facteur folliculo-stimulant gravidique, mais à l'excitation de l'hypophyse du Cobaye à la suite des injections. Cette quantité légèrement excessive d'hormone auxogène a été équilibrée par la quantité d'hormone crinogène qui, bien qu'administrée de façon chronique pendant trois semaines, s'est trouvée encore dans des limites physiologiques sans produire des conditions pathologiques dans l'ovaire, tout en permettant une sécrétion d'androgènes suffisant à la masculinisation de ces femelles. Pourtant, au moment de l'autopsie, il y a déjà accoutumance et l'hormone auxogène commence à se faire sentir.

Il est permis de supposer que, dans ce cas, une prolongation du traitement n'aurait pas non plus accentué la masculinisation.

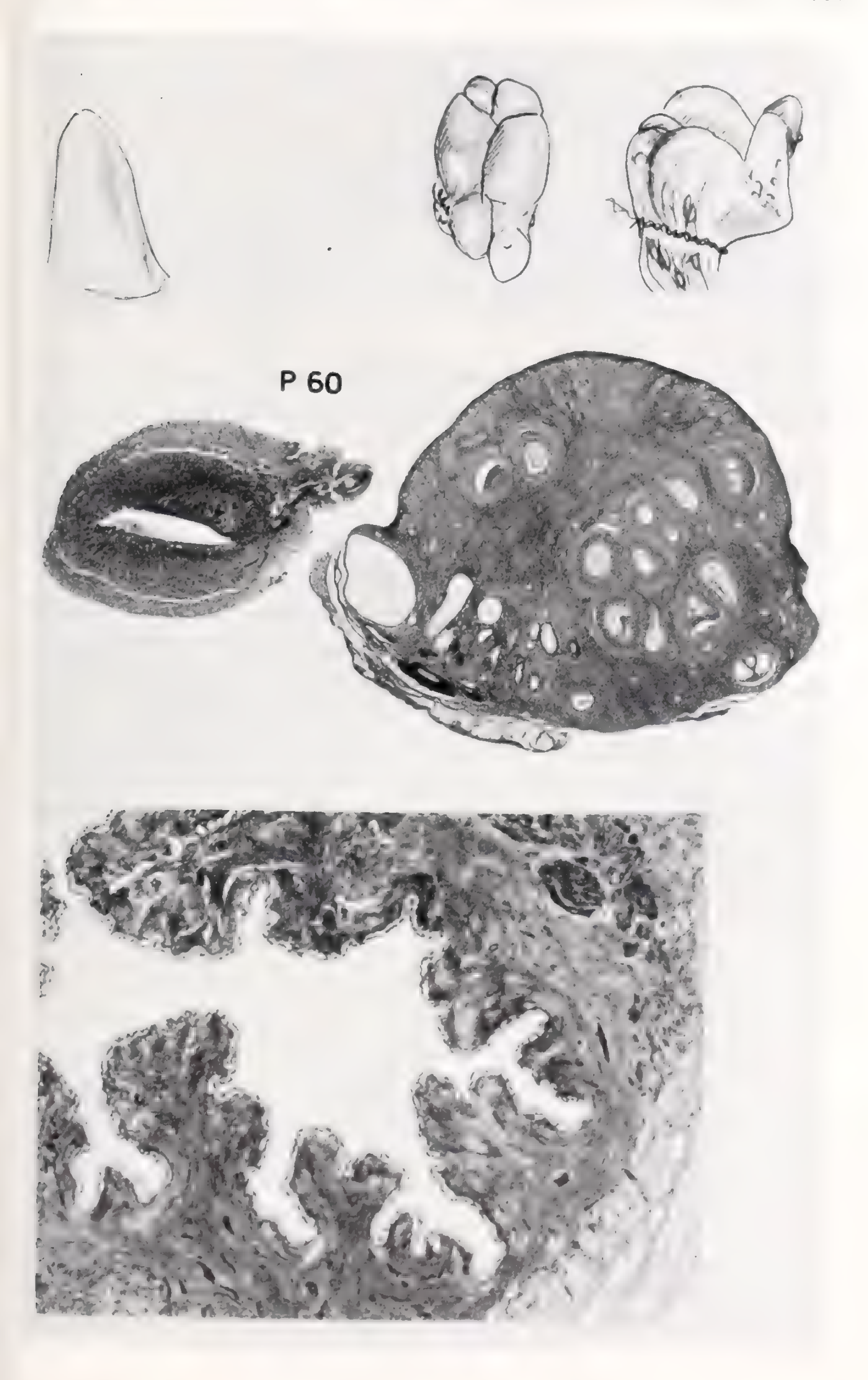
2) *Sur femelles de Cobayes hypophysectomisées*

a) *20 injections* (fig. 18).

Bien que les trois femelles diffèrent d'âge et de poids (2 femelles — P 90, P 92 — de 4 mois, pesant environ 480 g et 1 femelle — P 60 — de 8 mois pesant 700 g), les conditions d'expérience ont rendu cette série suffisamment homogène pour qu'on puisse en tirer des conclusions valables.

FIG. 18.

Femelle P 60. — Opérée à l'âge de 33 semaines et demie, repos de 11 jours; 20 injections de 20 U.I.
L'ovaire (74 mg; i.n. = 28,6) est hépatisé, partiellement accoutumé, avec un rete ovarii faiblement kystique. Il y a trop de follicules.
Le tractus est au repos complet.


P 60

Au moment de l'opération, toutes les femelles étaient en dioestre. Elles ont été injectées après un délai relativement long de 11 jours en moyenne.

Masculinisation et hyperféminisation:

Les éminences blanches ne sont visibles que vers le 11ᵉ jour en forçant le clivage du clitoris. La masculinisation finale est irrégulière surtout en ce qui concerne la dévagination du clitoris. Les crochets sont bien constitués et l'on note des tendances à la formation d'odontoïdes.

Tout comme dans la série précédente, les mamelons sont petits, flasques et marquent l'absence d'hyperféminisation.

Examen histologique:

Le rapport entre le degré de masculinisation et l'aspect ovarien saute aux yeux. L'index nucléaire moyen est de 29,2. Mais il faut distinguer: la femelle (P 90), dont le clitoris est bien développé, mais peu dévaginable, et qui possède des ovaires de 36 mg (6,4 $^0/_0$) avec un index de 32,2; les deux autres femelles (P 60, P 92) à poids ovarien double avec des index de 26,8 et 28,6 dont la virilisation est parfaite.

Chez toutes les femelles, le rete ovarii est très kystique. Les ovaires sont hépatisés sans trace de formations lutéales, abstraction faite de quelques rares restes de très vieux corps jaunes déformés (cf. les témoins hypophysectomisés). Il semble que les quelques follicules restants ne doivent pas être pris spécialement en considération, puisque les vagins sont en di-oestre typique et les cornes utérines petites et aplasiées.

b) *Conclusions.*

Dans l'ensemble, la série des femelles hypophysectomisées recevant 20 U.I. par jour est très satisfaisante et remplit presque toutes les conditions requises. Au moment de l'autopsie, l'accoutumance n'est ni complète comme chez les femelles hypophysectomisées recevant 10 U.I., ni comparable à la série des « 20 U.I. sur femelles normales », où les éléments folliculaires l'emportaient sur le tissu interstitiel. Donc, les ovaires bien hépatisés ne sécrètent plus d'hormones sexuelles femelles, à en juger par l'absence de toute stimulation au niveau du tractus.

Pourtant la virilisation de ces femelles laisse à désirer:

— d'un côté, elle se déclenche tardivement par rapport aux femelles normales recevant la même dose (en fait dans un laps de temps presque identique à celui observé chez les femelles hypophysectomisées injectées de 10 U.I.);
— d'un autre côté, cette virilisation est plus faible que chez les femelles normales recevant 20 U.I. sans être plus prononcée que dans la série des 10 U.I. injectées aux femelles hypophysectomisées.

L'explication de la similitude de réaction à 10 U.I. et à 20 U.I. chez des femelles hypophysectomisées est difficile à trouver. Faut-il admettre que la réaction initiale — et c'est elle qui semble très importante pour la virilisation — d'un ovaire plus atrésié 11 jours après hypophysectomie, mais stimulé par 20 U.I. soit comparable à celle d'un ovaire moins atrésié après 7 jours, donc encore plus sensible, mais n'étant stimulé que par 10 U.I.?

Cette hypothèse pourrait être mise en doute, si l'on songe qu'une injection unique de 150 U.I. d'Antuitrine S administrée à une femelle hypophysectomisée depuis 23 jours a suffi pour transformer complètement les ovaires. Quatre jours plus tard, le tissu interstitiel est entièrement crinogène, hépatisé et l'index nucléaire descendu à 28,1!

Ces détails mis à part, il faut souligner que dans cette série de 20 U.I. de gonadotropines injectées à des femelles de Cobayes hypophysectomisées, les résultats obtenus font ressortir, mieux qu'ailleurs, le rôle que joue l'ovaire dans le phénomène de la masculinisation. A savoir que le degré de virilisation (sans tenir compte des différentes sensibilités éventuelles des clitoris) est inversement proportionnel aux index nucléaires — ceci même lors de faibles différences des valeurs mesurées — et directement en fonction du poids de l'ovaire exprimé en valeurs relative ou absolue. Cela signifie que les androgènes sont sécrétés par une certaine quantité variable de tissu interstitiel dont l'activité individuelle des cellules se traduit par leur taille (index nucléaire) et par leur soudanophobie initiale.

Alors pourquoi a-t-on observé dans cette expérience une meilleure masculinisation des femelles normales et non des hypophysectomisées? Parce que, même si l'index nucléaire moyen est plus

bas chez les hypophyso-prives, le poids absolu des ovaires des femelles normales est plus élevé (52 mg - 82 mg), et qu'en fin de compte, la stimulation d'un organe dépend du taux des hormones circulantes — donc de la masse sécrétante — et non seulement de l'état d'activité du tissu sécréteur, analysé sur une coupe histologique représentant une infime partie de la glande endocrine.

Cette explication décrit des faits, mais ne donne pas encore la raison fondamentale et l'origine du comportement différent des gonades en question.

CHAPITRE IV. LES DOSES MOYENNES

Injections de 40 U.I. (60 U.I.) par jour

1) *Sur femelles de Cobayes normales*

a) *20 ou 21 injections* (fig. 19, 20).

Sept femelles de Cobayes d'âge variable ont été utilisées pour cette série, afin de voir s'il est possible d'établir aussi un rapport entre l'âge de l'animal et sa capacité de réaction au traitement. La première dose a été injectée alors que tous les vagins étaient fermés; c'est-à-dire au moment du di-oestre chez les adultes, éventuellement pro-oestre prépubéral chez les impubères. Cette série comprend donc:

— deux femelles adultes d'environ 4 mois, pesant en moyenne 460 g (364, 371);
— deux jeunes adultes de deux mois venant d'avoir leur premier cycle (408, 409);
— trois femelles impubères (372, 373, 377), de taille très voisine des jeunes adultes, ces cinq femelles pesant en moyenne 300 g.

Masculinisation et hyperféminisation:

Les deux femelles adultes (364, 371) se masculinisent rapidement le 8[e] jour et, après 20 injections, le clitoris est grand, bien dévaginable, recouvert d'odontoïdes (371: mamelons flasques) ou sans odontoïdes (364: mamelons stimulés).

Les cinq jeunes femelles se masculinisent plus tardivement (10e, 11e jour). Enfin, le degré du développement atteint est très variable et peut être mis directement en rapport avec la taille de l'ovaire. Quant aux mamelons, le plus petit se trouve associé à la masculinisation la plus nette et inversement. (cf. tableau IV).

TABLEAU IV.

Rapports entre la masculinisation et le poids absolu d'une part et l'état des mamelons d'autre part

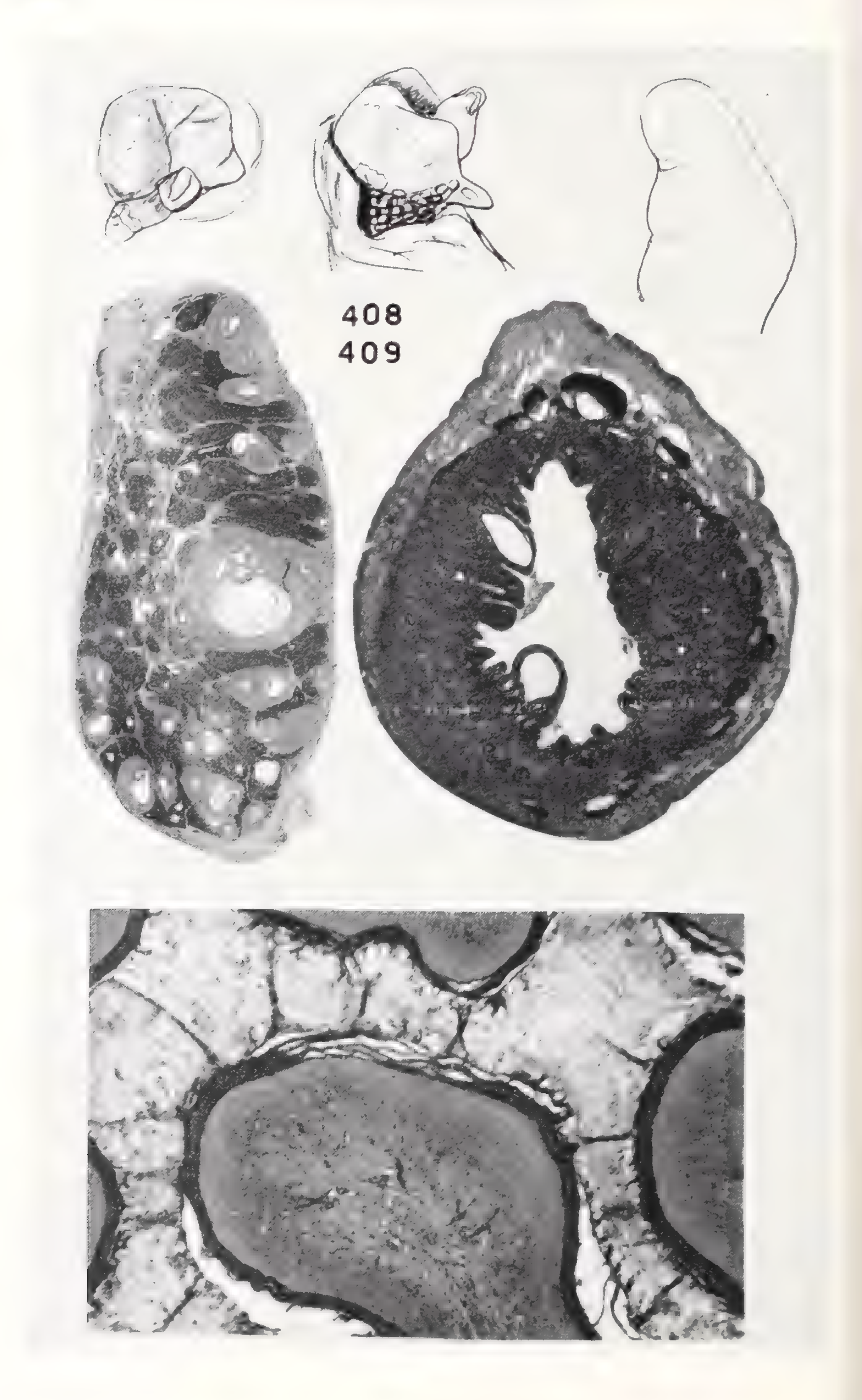
Age à l'injection	N° de la femelle	Ovaire		Masculinisation			Mamelons
		Poids mg	Etat histologique *	Clitoris	Crochets	Odontoïdes	
Adulte	364	115	auxogène	bien dévag.	moyens	très peu	gros **
»	371	79	»	peu »	»	+++	petits
Impub.	372	77	»	bien »	»	+++	petits
»	377	62	»	bien »	»	+++	moyens
1er rut	409	54	acmogène	peu »	grands	++	gros
Impub.	373	44	» (FH)	tr. peu »	petits	—	moyens
1er rut	408	37	» (FH)	tr. peu »	petits	±	gros

* En ne tenant compte que de l'action folliculo-stimulante.
** Ne dépasse pas la taille normale chez une adulte.

Examen histologique :

Dans cette série, l'index nucléaire, dont la moyenne se situe à 23,1 (20,5 à 27,6), ne peut plus, à lui seul, indiquer le degré de virilisation. Il ne représente alors que l'état d'activité du tissu interstitiel au moment de l'autopsie très semblable chez les sept femelles. Les ovaires sont tous anormaux et caractérisés par une forte croissance folliculaire, soit du type auxogène chez les femelles aux ovaires les plus gros et bien virilisées, soit du type acmogène chez les autres. Ces follicules peuvent devenir, ou hémorragiques ou prélutéiniques (cf. tableau IV). Ces deux évolutions sont pathologiques et témoignent d'un déséquilibre hormonal.

L'accoutumance au facteur crinogène est localement assez forte, et le tissu interstitiel relativement soudanophile abondant. Dans les deux groupes — adultes et jeunes — on note également l'apparition de follicules prélutéiniques et de méroxanthosomes, ces derniers prenant chez les adultes des tailles et des aspects tels


408
409

qu'ils semblent avoir joué le rôle de corps jaunes, du point de vue fonctionnel.

Si la présence de corps jaunes est admissible chez les femelles adultes, elle surprend tout de même chez l'une des femelles (372), impubère au début du traitement, dont le vagin ne s'est jamais ouvert et qui, en fin d'expérience, se trouve en début de pro-oestre. L'aspect des cornes utérines, petites, très frangées, correspond à l'état vaginal. Son ovaire était le seul qui ne s'était ni accoutumé, ni hépatisé.

L'état histologique du tractus reflète fidèlement l'activité sécrétrice déviée des ovaires: les cycles vaginaux sont irréguliers, prolongés ou non, aussi bien en période de di-oestre que de rut. Quatre femelles sont en oestre, deux en post-oestre. Les cornes utérines ont réagi de façon variable: les glandes sont parfois peu visibles ou dilatées; les conduits glandulaires peuvent être visibles donnant un aspect « ondulé » à l'épithélium; certaines cornes utérines sont plus ou moins glandulo-kystiques. La vascularisation est généralement forte.

Il faut alors souligner que les deux femelles (371, 373) possédant des ovaires accoutumés et des corps jaunes ou des méroxanthosomes à lutéinisation poussée sont les seules à avoir un vagin en post-oestre caractéristique et des cornes utérines au même stade, à épithélium non frangé et œdème localisé en profondeur.

b) *35 injections.*

Toujours dans l'idée de renforcer la masculinisation, les gonadotropines ont été administrées de façon discontinue et étalées sur une plus grande durée jusqu'à la 20e injection — soit une semaine d'injections alternant avec une semaine de repos (407, 414), soit des injections tous les deux jours (413). Les trois femelles de Cobayes, toutes de jeunes adultes, qui pesaient en moyenne

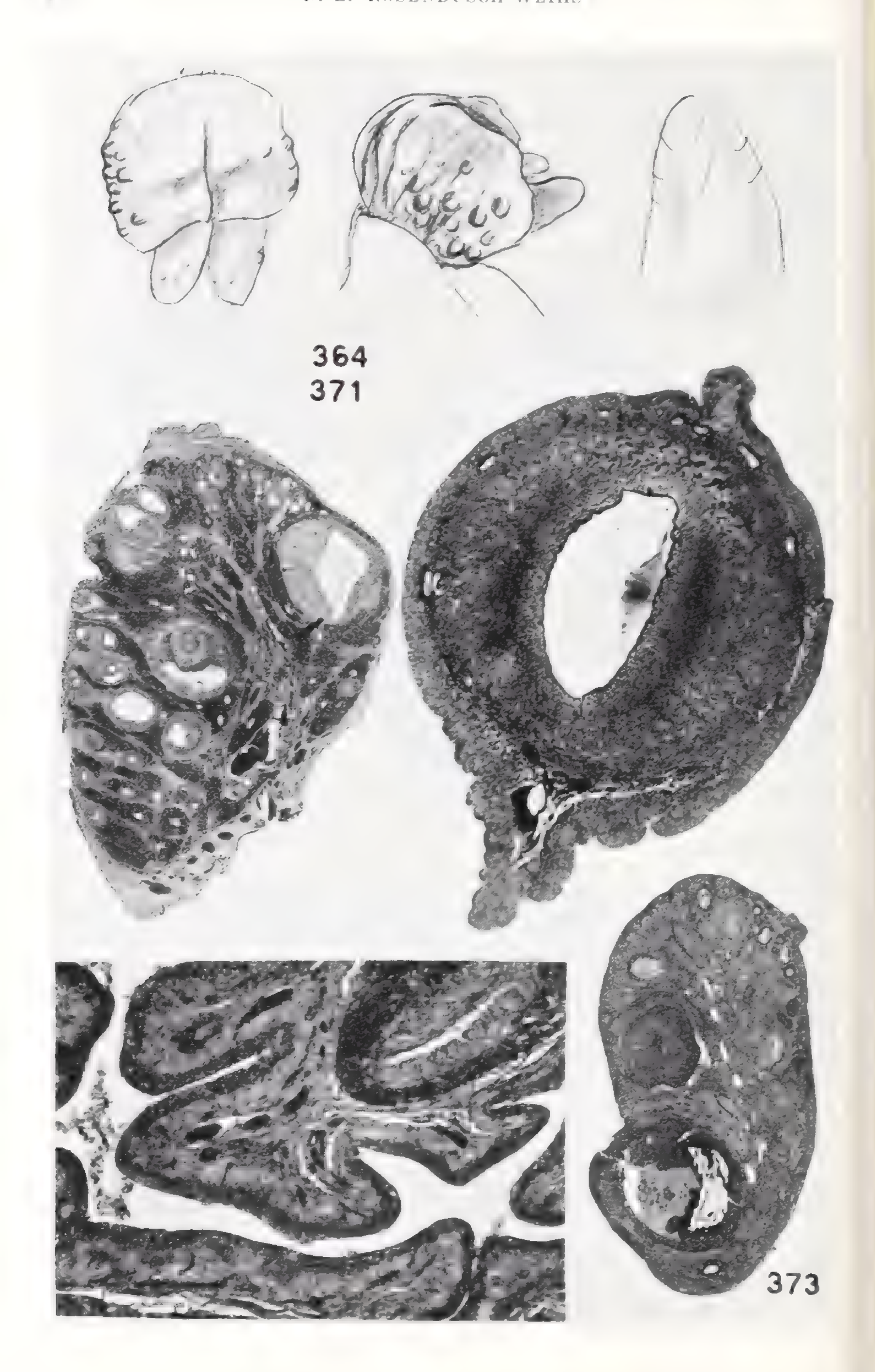
---

Fig. 19.

Femelles jeunes; 21 injections de 40 U.I.; type I.

Femelle 408. — Masculinisation tardive et faible, allant de pair avec une forte stimulation des mamelons.

Femelle 409. — L'ovaire (54 mg; i.n. = 20,8) présente la réaction acmogène classique avec croissance d'un follicule en voie de devenir prélutéinique. Les cornes utérines ont une tendance glandulo-kystique. Le vagin est en rut (hypermucifié!).


364
371
373

310 g, venaient d'avoir leur premier rut et se trouvaient en di-oestre à la première injection.

La masculinisation a évolué normalement. Les éminences blanches, visibles après 7 injections, se sont détachées, pendant la 2e semaine de traitement. Mais à la 20e injection, donc après cinq semaines, le clitoris n'est pas plus développé que dans la série précédente à traitement continu.

Comme toutes les injections avaient été faites avec la même solution dont l'activité a pu diminuer à la longue, j'ai décidé de chercher à renforcer la masculinisation par un traitement continu de 15 injections, après une 3e semaine de repos, tout en espérant que l'accoutumance ne soit pas encore complète.

C'est alors que les résultats deviennent troublants: le clitoris régresse rapidement. A l'autopsie — et pour une dose totale de 1.400 U.I. — on se trouve en présence d'une masculinisation faible et de mamelons restés normaux.

Les ovaires, de taille moyenne, ont vu leur index nucléaire s'élever à 28,4 (414) — 32,1 (407) — 39 (413). L'examen histologique révèle une grave dysfonction gonadique. Le tissu interstitiel, peu abondant, soudanophile, est complètement accoutumé, dans un ovaire où d'épaisses travées conjonctives séparent des follicules à thèque lutéinisée, des kystes (407) et des corps jaunes actifs (413).

Il me semble que les injections discontinues ont, au rythme choisi, aggravé les troubles au niveau du tractus. Dès le début du traitement les ruts sont très anormaux. On observe très nettement deux types de réaction en parfaite concordance avec

---

Fig. 20.

Femelles à réaction du type II.

Femelle 364. — Autopsiée à l'âge de 21 semaines et demie; 20 injections de 40 U.I.
L'ovaire (115 mg; i.n. = 27,6), totalement accoutumé, possède plusieurs gros follicules, parfois prélutéiniques et des méroxanthosomes. Les corps jaunes se trouvent sur une autre coupe.

Femelle 371. — Autopsiée à l'âge de 19 semaines; 20 injections de 40 U.I. Masculinisation rapide, prononcée et mamelons peu stimulés.
On observe un œdème péri-glandulaire profond des cornes utérines. Le tractus est en post-oestre.

Femelle 373. — Autopsiée à l'âge de 11 semaines; 21 injections de 40 U.I. Bien que jeune, cette femelle réagit selon le type II. Les ovaires (44 mg; i.n. = 21,6) sont partiellement accoutumés avec des méroxanthosomes, en plus des corps jaunes et des follicules hémorragiques.

l'état histologique de l'ovaire, mais indépendants du mode de traitement:

— La femelle 407 présente l'image typique pour un excès d'oestrogènes, tant dans ses cornes utérines glandulo-kystiques, que dans son vagin à stratifications aberrantes 15 jours après l'ouverture vaginale;

— Les deux autres femelles présentent une image caractéristique reflétant une action forte de la progestérone. Les cornes utérines sont peu stimulées, à épithélium plat et glandes très actives. Bien que le vagin soit resté fermé en fin d'expérience, il n'est jamais question de di-oestre classique. A l'autopsie la diapédèse leucocytaire persiste les 7e et 11e jours du cycle;

c) Conclusions.

Quel que soit l'état de l'ensemble du tractus génital, la masculinisation dans cette double série n'est pas très forte, assez variable et régresse après prolongation du traitement, qui a favorisé l'accoutumance.

Sans revenir sur les détails histologiques on peut affirmer que les ovaires des femelles adultes ont mieux répondu que ceux des femelles impubères à la stimulation par les hormones exogènes, et qu'il y a un rapport net entre l'âge d'un animal et son comportement à l'égard des excès d'hormones gonadotropes. Ces hormones chorioniques doivent donc trouver suffisamment de tissu interstitiel, prêt à devenir crinogène, pour que le taux des androgènes sécrétés puisse déclencher le développement complet du clitoris; sinon, l'accoutumance ayant lieu trop tôt, les androgènes ne sont plus libérés ou le sont en trop faibles quantités pour que même un clitoris sensibilisé puisse continuer son évolution en organe hypospadique.

C'est ce qui s'est produit dans cette série à 40 U.I. où l'on se trouve au-dessus du seuil crinogène et acmogène, alors que le facteur auxogène injecté commence à se faire sentir.

Quant à la femelle impubère (372) de la première série, faisant exception à la règle par sa non-concordance entre l'état des gonades et le reste du tractus, je suppose qu'il s'agit d'une différence de seuil de sensibilité. L'ovaire, physiologiquement prêt à réagir aux taux gonadotropes pour adultes, c'est-à-dire plus élevés, a

subi son premier rut par suite d'une stimulation prématurée, extra-physiologique, forte. Mais les cornes utérines et le vagin, étant encore trop peu sensibles à une quantité trop faible d'hormones stéroïdes femelles circulant, ces deux organes-cibles sont restés bloqués et n'ont pu suivre jusqu'au bout l'évolution complète des ovaires. Chez les adultes, les ovaires sont habitués à s'adapter à des fluctuations qualitatives hormonales et réagissent, lors d'un traitement, de façon beaucoup moins pathologique que chez les impubères. Les femelles prépubères constituent un groupe à part. Elles-mêmes en pleine recherche d'un nouvel équilibre hormonal, elles réagissent individuellement très différemment à l'apport supplémentaire de stimulines.

En ce qui concerne plus spécialement la régression tardive de la masculinisation, il est intéressant de mentionner les expériences de Bruzzone et Lipschütz (1953) sur femelles de Cobayes castrées. Les auteurs ont étudié l'antagonisme « testostérone - oestradiol » au niveau du clitoris et se sont aperçus que lors d'injections simultanées de testostérone et d'une dose dix fois plus faible de benzoate d'oestradiol, le développement du clitoris est considérablement retardé. Cependant, ils ne signalent pas d'expériences avec de l'oestradiol administré consécutivement au traitement à la testostérone, ce qui aurait constitué en quelque sorte le groupe témoin de mes trois femelles « aberrantes ». Reste à signaler également la régression des crochets péniens des Cobayes mâles castrés à la suite de l'absence de testostérone.

2) *Sur femelles de Cobayes hypophysectomisées*

a) *Traitement de courte durée.*

On peut réunir dans un même groupe les femelles ayant succombé au choc opératoire après une forte chute de poids et dont, par conséquent, le traitement, commencé quatre jours après l'opération, a été extrêmement court:

Trois jeunes adultes (374, 410, 412) autopsiées le 11[e] jour du cycle venaient de recevoir une injection de 40 U.I.; trois femelles prépubères avaient reçu, soit une injection de 60 U.I. (M7-H5), soit une dose totale de 240 U.I. répartie en 4 fois 60 U.I. (M1-H3) ou 6 fois 40 U.I. (411).

Bien entendu, il ne peut être question ni de masculinisation, ni d'hyperféminisation. Un tableau saura mieux rendre les modifications foudroyantes apportées par ces quelques injections de gonadotropines aux doses relatives de 14 U.I. pour cent grammes de poids du corps. (cf. tableau V).

Le poids absolu des ovaires, ainsi que la chute de l'index nucléaire (i.n.) sont proportionnels à la dose et à la durée.

Les ovaires, privés d'abord brutalement de stimulation, puis soumis brusquement à nouveau aux hormones gonadotropes, dépassant le seuil crinogène, ont réagi en fonction de leur âge. Il est normal de constater dans tous les cas une vascularisation intense et des kystes. Après une seule injection, les ovaires sont encore très atrésiés et la décharge soudanophile est nette.

Tableau V.

Rapport entre la dose, le poids de l'ovaire, l'index nucléaire et l'état histologique.

Age	N° de la femelle	Dose	Ovaire		
			Poids mg	i.n.	Etat histologique de l'ovaire
Adulte . . .	410		45	41,2	vascularisation atrésies corps jaunes des ruts précédents
» . . .	412	1 × 40 U.I.	50	39,7	
» . . .	374		62	30,6	
Prépubère . .	M7-H5	1 × 60 U.I.	gros	23,4	vascularisation hépatisation faux corps jaunes crinogènes
» . .	411	4 × 60 U.I.	108	14,4	
» . .	M1-H3	6 × 40 U.I.	très gros	12,9	

Comme il s'agit exclusivement d'hormone lutéinisante, les follicules ne sont pas revigorés. L'apparition de petits méroxanthosomes pleins après six injections indique la présence de traces d'hormones hypophysaires gravidiques dans le produit injecté; la durée du traitement étant plus importante que la dose totale (!).

Chez les adultes on observe des corps jaunes frais du dernier rut (8 - 12 jours) à côté des atrésies. L'index nucléaire élevé (30 - 41), donc un état très peu crinogène, est en rapport avec la présence des corps jaunes puisqu'on sait qu'ils drainent l'hormone lutéini-

sante. Il faut alors souligner l'hépatisation complète du tissu interstitiel crinogène (faux corps jaunes thécaux) dès que la dose monte à 60 U.I. et surtout après un traitement de 4 à 6 jours qui semble avoir fait disparaître les lipides. L'état crinogène actif est en effet caractérisé par la présence de cellules hypertrophiées, soudanophobes, jusqu'à l'accoutumance.

Au niveau du tractus, les cornes utérines suivent normalement le cours de leur régression caractéristique chez les femelles hypophysectomisées. Le vagin, de son côté, est en di-oestre et ne présente une faible mucification que pour les deux femelles (411, M1-H3) ayant reçu 240 U.I. au total. Encore, n'est-il pas prouvé que cette « stimulation » soit réellement due au traitement de courte durée qui a débuté au moment même de l'ultime décharge d'oestrogènes, caractéristique du quatrième au huitième jour d'hypophysectomie par suite de la résorption massive de liquor folliculi des follicules détruits.

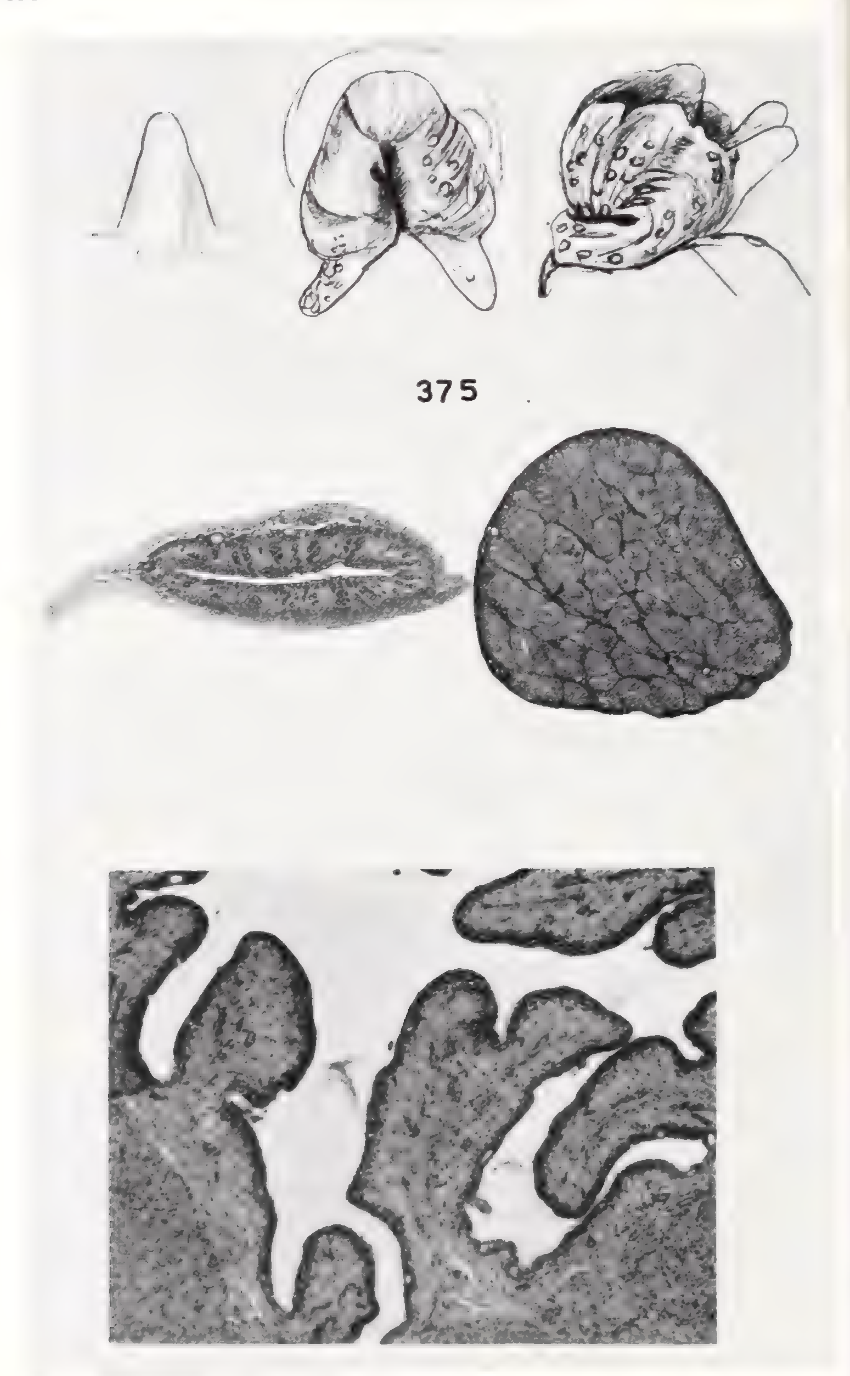
b) *20 injections* (fig. 21, 22).

Cinq femelles de Cobayes, toutes opérées en phase de di-oestre à l'âge d'environ quatre mois (410 g) ont été injectées 5 à 7 jours après l'opération. Une sixième femelle (375) âgée de 2 mois, mais très avancée, avait également été choisie en raison de sa constitution et de son poids (325 g). Elles constituent une série très homogène.

J'ai décelé dans quatre bases de crâne (370, 416, 403, 400) des restes de pars tuberalis contenant parfois de la colloïde, mais sans conséquence apparente sur le comportement hormonal de ces femelles. Aucun reliquat de pars antérior n'a été retrouvé.

Masculinisation et hyperféminisation:

Les animaux se sont masculinisés lentement dans les délais habituels. On distingue les éminences blanches à la 6e, 9e injection et les crochets sont visibles en général vers la 10e injection. Sur ce plan, le résultat final obtenu est plus que satisfaisant, car en l'absence de l'hypophyse les mamelons sont restés petits, flasques; la virilisation est plus poussée que dans toutes les séries précédentes: le clitoris très profondément dévaginable est abondamment recouvert d'odontoïdes et les crochets, bien formés, mesurent près de 2 mm.


375

Examen histologique :

Les valeurs de l'index nucléaire sont quelque peu dispersées autour de la moyenne de 22,1 (17,8 à 24,1). Elles sont plus élevées que prévu par suite de l'accoutumance déjà prononcée des ovaires compacts et d'assez grande taille où les cellules théco-interstitielles commencent à perdre leur hypertrophie initiale et se chargent de lipides soudanophiles.

Si histologiquement tous les ovaires se ressemblent beaucoup par l'hépatisation du tissu interstitiel, par l'absence de grands follicules et de follicules prélutéiniques et par la présence occasionnelle de faux corps jaunes — le traitement ayant fait disparaître les corps jaunes — il est tout de même possible de diviser cette série en deux groupes fonctionnellement dissemblables. Cette différence est encore accentuée par les deux types distincts de tractus génitaux :

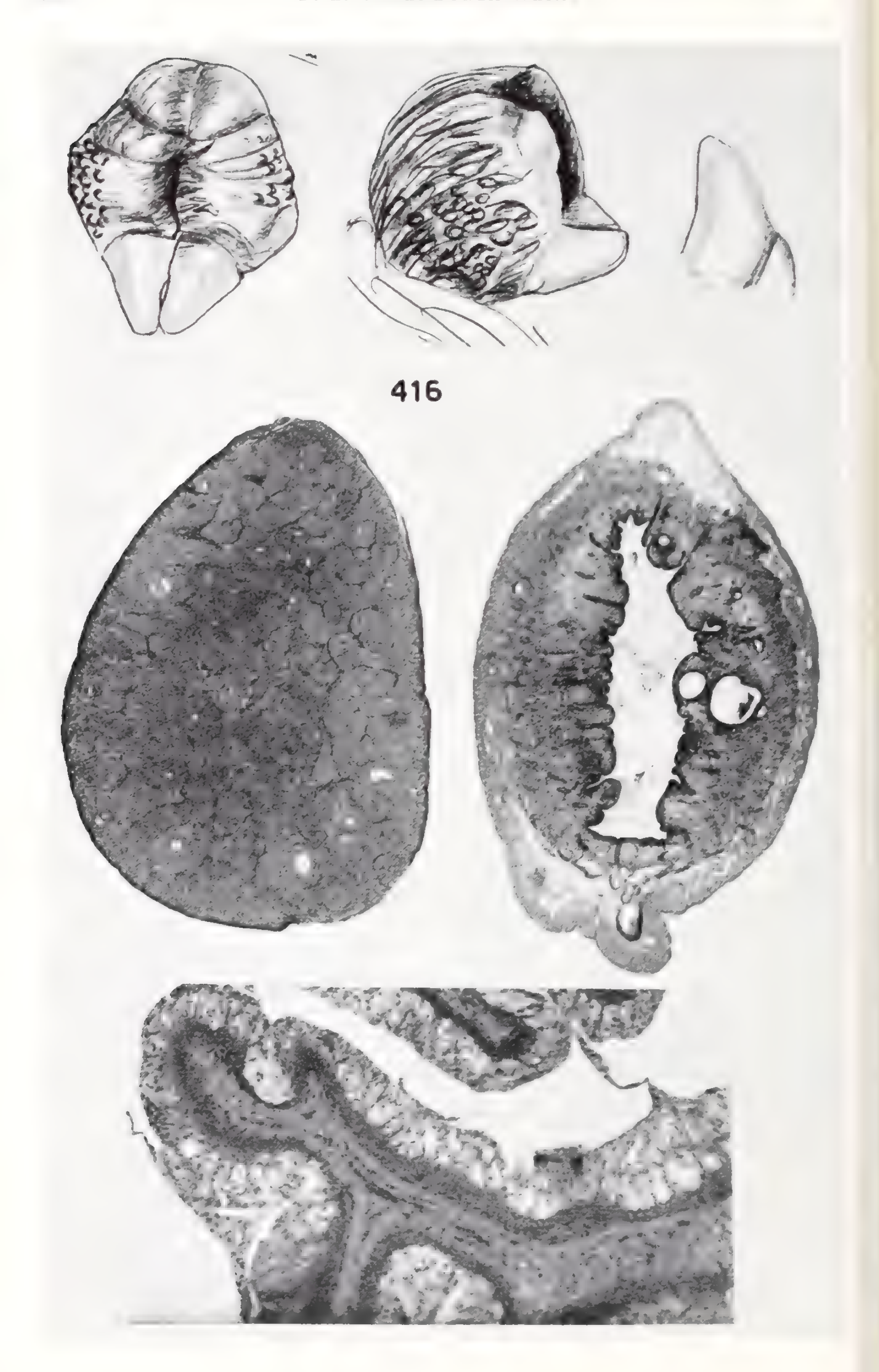
— Chez les trois femelles (375, 365, 400), les follicules moyens font défaut ainsi que les méroxanthosomes. La sécrétion de stéroïdes femelles est nulle ou en dessous du seuil efficace, si bien que le vagin se trouve en di-oestre, aplasié, parfois à trous et les cornes utérines réduites à leur plus simple expression.

— Chez les trois autres femelles (370, 403, 416), on constate une stimulation plus ou moins discrète des follicules ainsi que la formation de rares méroxanthosomes de petite taille. Par conséquent, il y a sécrétion d'oestrogènes sous l'influence desquels les vagins deviennent hypermucifiés et les cornes utérines rondes, pseudo-pluristratifiées, frangées avec des cinèses.

Chez l'une de ces femelles (416), dont le vagin s'est ouvert la veille de l'autopsie, on observe même une stratification vaginale atypique, allant de pair avec les cornes utérines en voie de devenir glandulo-kystiques, malgré un index nucléaire de 17,8 (le plus bas de toute la série).

FIG. 21.

Femelle 375. — Opérée à l'âge de 7 semaines; repos de 3 jours; 20 injections de 40 U.I.; type I.
L'ovaire (50 mg; i.n. = 20,9) présente une hépatisation généralisée, accompagnée d'une accoutumance faible.
Le tractus est complètement aplasié. Le vagin est en « di-oestre à trous ».


416

c) *Conclusions.*

Si l'hypophysectomie simple a montré avec quelle rapidité les ovaires sont capables de réagir, cette sensibilité est encore beaucoup plus évidente à la suite de quelques injections d'hormones gonadotropes. Les conditions dans lesquelles ce travail a été mené ont prouvé la labilité extrême des ovaires prêts à répondre à la moindre variation quantitative — et qualitative — des gonadotropines qui, de toutes façons, ont été injectées à des taux extra-physiologiques. En outre, les différents seuils d'action de l'ovaire sont très bas.

C'est ainsi que, par exemple, l'index nucléaire d'une femelle opérée depuis dix jours, et après six injections, a été de 12,9 — alors que sans les injections on est en droit de supposer qu'il aurait largement dépassé 45. L'abaissement de l'index nucléaire, donc l'augmentation de l'activité du tissu interstitiel, ainsi que la stimulation globale des ovaires sont proportionnels à la dose administrée et à la durée du traitement, et ceci jusqu'au moment de l'accoutumance à l'hormone crinogène, réalisée aux environs du 15e jour.

Il est alors intéressant de comparer les résultats des deux séries à durée normale de traitement, c'est-à-dire 20 fois 40 U.I. L'index nucléaire moyen est plus élevé chez les femelles normales (23,1) que chez les femelles hypophysectomisées (22,1). Malgré cette différence numérique plutôt faible, celle existant entre les degrés de masculinisation est énorme: commençant un peu plus tôt, la virilisation des femelles hypophysectomisées a été beaucoup plus prononcée. Ceci confirme les données de K. PONSE sur les Rats, plus faciles à viriliser en l'absence de l'hypophyse.

On observe aussi que l'ovaire des femelles normales sécrète, à doses égales de gonadotropines injectées, plus d'oestrogènes que

---

FIG. 22.

Femelle 416. — Opérée à l'âge de 19 semaines; repos de 5 jours; 20 injections de 40 U.I.; type II.
L'ovaire (178 mg; i.n. = 37,1) est complètement hépatisé avec quelques méroxanthosomes et une croissance folliculaire moyenne.
Les cornes utérines sont stimulées (franges, quelques kystes glandulaires en profondeur).
Le vagin est mucifié avec un début de stratification.

l'ovaire des hypophyso-prives. Il est clair que dans le premier cas une certaine quantité d'hormone folliculo-stimulante, endogène, à doses quasi physiologiques, n'a cessé d'atteindre l'ovaire (effet acmogène), alors que, chez les femelles opérées, il s'agit vraisemblablement de très faibles manifestations de l'hormone folliculo-stimulante hypophysaire de l'urine gravidique, ce qui mérite quelques considérations supplémentaires. Cette action folliculo-stimulante, visible seulement dans la moitié des femelles hypophysectomisées, est très faible, mais incontestable. Faut-il l'attribuer uniquement à la folliculo-stimuline du produit injecté, ou celle-ci n'agirait-elle pas en synergie avec des hormones élaborées par une pars tuberalis devenue tardivement fonctionnelle? L'étude histologique seule est incapable de trancher cette question. Il aurait fallu avoir la possibilité de vérifier le pouvoir d'activité biologique de tous les reliquats hypophysaires et de toute cellule étrangère trouvée à l'emplacement de l'hypophyse. Mais alors il fallait renoncer à l'identification histologique des tissus prélevés, et de toute façon la réussite d'un tel dosage était plus que problématique. C'est la raison pour laquelle, et jusqu'à plus ample informé, l'action folliculo-stimulante a été considérée comme une preuve irréfutable des traces d'hormone hypophysaire contaminant l'hormone chorionique extraite de l'urine de femme enceinte. Cette action est d'ailleurs beaucoup plus nette encore aux plus fortes doses (cf. aussi Lyon, Simpson, Evans 1953).

En terminant ces commentaires on notera que les femelles hypophysectomisées, soumises en principe à une seule sorte d'hormone, se trouvent moins proches du déséquilibre total qui s'établit chez les femelles normales et qui est particulièrement évident après 35 injections. On voit apparaître alors des quantités considérables d'oestrogènes et de progestérone qui sont libérées dans la circulation dans des proportions variant d'un animal à l'autre et qui entravent à la fin complètement l'action des androgènes déjà diminués à la suite de l'accoutumance du tissu interstitiel ovarien.

CHAPITRE V. LES DOSES FORTES

INJECTIONS DE 150 U.I. PAR JOUR

1) *Traitement de courte durée*

a) *Une à trois injections et autopsies différées sur femelles de Cobayes normales* (fig. 24).

A la suite des résultats des dosages métaboliques, effectués par les chimistes du laboratoire, il devint nécessaire de connaître l'état de l'ovaire au début des traitements. Je désirais déterminer plus particulièrement l'étendue de l'effet produit par les trois premières injections et l'influence du temps écoulé entre la dernière injection et l'autopsie.

TABLEAU VI.

Conditions d'expériences

N° de la femelle	Dose en U.I.	Autopsie après la dernière injection	Délai de l'autopsie	Stade du cycle à la première injection (cycles précédents)
431	1 × 150	15 heures	raccourci	milieu di-oestre
435		24 heures	*normal*	fin di-oestre (rapprochés)
433		24 heures		pro-oestre (oestre long)
432		38 heures	prolongé	milieu di-oestre
430		48 heures		
429	2 × 150	24 heures	*normal*	milieu di-oestre (rapprochés)
434		48 heures	prolongé	fin di-oestre
428	3 × 150	24 heures	*normal*	fin di-oestre

Les huit femelles utilisées pour cette expérience ont reçu 150 U.I. par jour (soit une dose relative de 34,1 U.I.). D'âge inconnu, puisque provenant d'un élevage étranger, elles pesaient entre

390 g et 480 g. Les deux ou trois ruts observés avant l'expérience n'ont pas toujours été parfaitement réguliers, ce qui, fort heureusement, ne semble pas avoir modifié les résultats. Les femelles se trouvaient généralement en phase de di-oestre, mais à des jours différents du cycle. Les deux femelles autopsiées 24 heures après l'unique injection étaient l'une au début du rut et l'autre en plein di-oestre, ce qui permet de savoir si l'ovaire répond différemment lors de la stimulation lutéinique en phase crinogène ou auxogène. Comme chaque type d'expérience n'est en fait représenté que par une seule femelle, le tableau récapitulatif ci-dessus énoncera plus clairement les données. (cf. tableau VI).

Il est bien entendu qu'on ne peut s'attendre à observer une masculinisation après un traitement de si courte durée, malgré la forte dose administrée.

Examen histologique:

Ovaires: — Les poids absolus, très variables, ont été en moyenne de 89 mg (69 mg à 131 mg); mais exprimés en poids relatifs ils ont très peu varié (autour de 20%). Donc ni le temps écoulé entre l'injection et l'autopsie, ni la dose administrée ne semblent influencer sensiblement la taille des ovaires durant les trois premiers jours.

L'évolution des tissus ovariens, c'est-à-dire leur profond remaniement, se traduit d'une façon remarquable par les index nucléaires. La figure 23 illustre un abaissement progressif très rapide, déjà quelques heures après la première injection, si les autopsies sont faites 24 heures après la dernière injection. Les valeurs sont donc respectivement de 28,2 (433, 435) - 24,4 (429) - 19,1 (428) [i.n. = 8,6 après 12 injections (169)!]. Notons que dans les deux cas où l'autopsie a été faite 72 heures après la première injection — l'une des bêtes recevant 300 U.I. l'autre 450 U.I. — les index nucléaires se situent autour de 20 (428, 434).

Les valeurs des index nucléaires des cinq femelles sacrifiées entre 15 et 48 heures après une injection unique méritent une attention particulière. Mesurant toujours l'état crinogène des anciennes atrésies thécales, on observe un plateau de la courbe à 24-38 heures, suivi d'une remontée après 48 heures. Ce phénomène est facile à expliquer: l'action des gonadotropines injectées se fait sentir pendant un certain temps, puis ces hormones disparaissent de la circulation. A ce moment, l'ovaire qui n'est pas

encore ébranlé au point de présenter des réactions par trop pathologiques, reprend lentement son état normal.

Or, au cours d'un traitement continu, la deuxième injection a lieu au moment de l'effet maximum de la première injection, et ainsi de suite, ce qui explique l'abaissement progressif suivant une courbe — et non une droite — car l'activité maximale du tissu interstitiel tend à s'exprimer par une valeur inférieure limite.

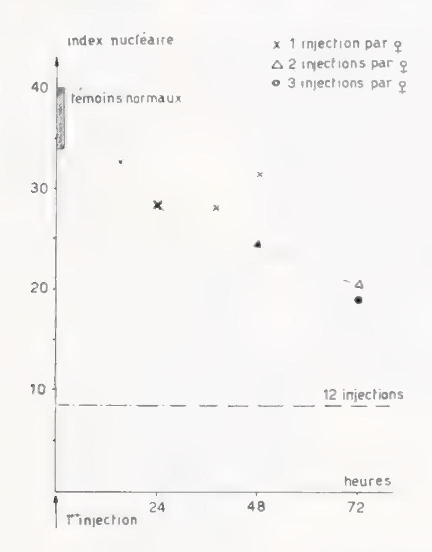


Fig. 23.

Femelles de Cobayes normales recevant 150 U.I. par jour.

Mise en évidence de l'action des trois premières injections et de l'autopsie différée sur l'index nucléaire. (Les valeurs des index nucléaires lors de l'autopsie 24 heures après la dernière injection sont exprimées par les signes pleins).

L'étude histologique détaillée est des plus intéressantes: 15 heures après la première injection, on note un début d'atrésie et des thèques folliculaires légèrement hypertrophiées. Au fur et à mesure que l'action des gonadotropines se prolonge, le nombre des atrésies augmente. Ces éléments, ainsi que les thèques folliculaires crinogènes perdent leurs lipides qui se pulvérisent en microliposomes très pâles (fins lipides) contrastant avec les macroliposomes rouges vifs des cellules du hile et des corps jaunes en régression; si bien qu'après la troisième injection on peut même parler d'hépatisation crinogène.

Tableau VII.

État histologique du tractus génital des femelles de Cobayes normales recevant quelques injections de 150 U.I.

N° de la femelle	Après autopsie	Ovaire: Atrésies	Ovaire: Méroxanthosomes	Ovaire: Corps jaunes	Vagin	Cornes utérines
1 × 150 U.I.						
431	15 h.	± normales	—	—	—(di-oestre)	réaction nulle ou faible
435	24 h.	fins lipides	en formation	—	rut coupé	
433	24 h.	état crinogène	un gros	récents	—(di-oestre)	
432	38 h.			récents	—(di-oestre)	
430	48 h.		en formation	récents	faible stimulation	
2 × 150 U.I.						
429	24 h.		deux beaux	—	pro-oestre	—
434	48 h.		plusieurs	—		faible stimulation
3 × 150 U.I.						
428	24 h.	hépatisation crinogène	un beau	récents vieux	rut coupé	glandes dilatées

La présence des méroxanthosomes constitue un autre critère essentiel de l'action des hormones gonadotropes sur les ovaires.

Fig. 24.

Doses quotidiennes de 150 U.I.

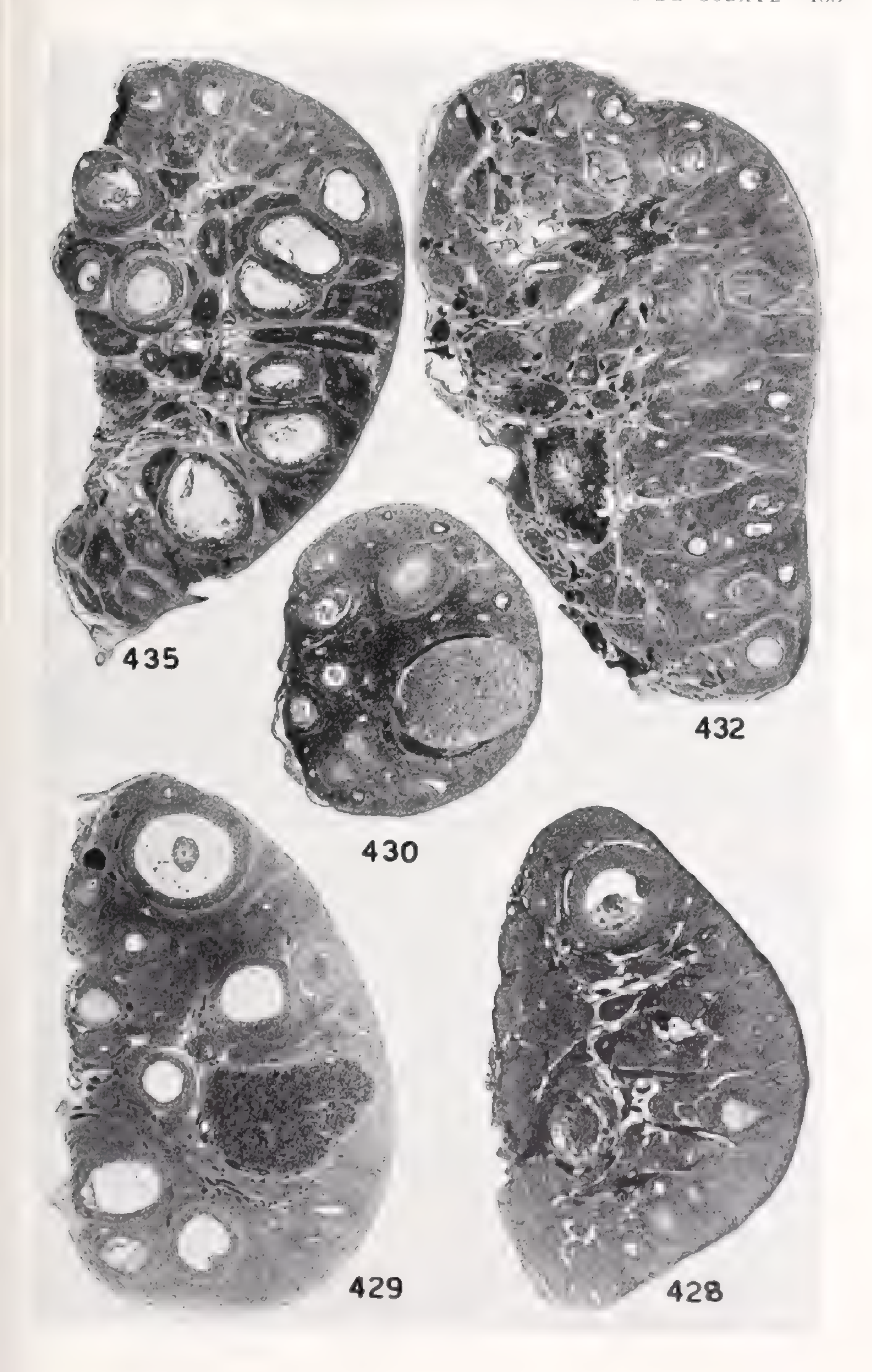
Femelle 435. — 1 injection; autopsie après 24 heures. L'ovaire (73 mg; i.n. = 27,6) montre quelques atrésies.

Femelle 432. — 1 injection; autopsie après 38 heures. L'ovaire (131 mg; i.n. = 28,1) est fortement vascularisé. Le tissu théco-interstitiel devient crinogène et les thèques sont également touchées.

Femelle 430. — 1 injection; autopsie après 48 heures. L'ovaire (77 mg; i.n. = 31,3) est petit, atrésié, mais moins crinogène que le précédent. Il faut souligner la formation de méroxanthosomes et la présence d'un corps jaune frais.

Femelle 429. — 2 injections; autopsie après 24 heures. L'ovaire (87 mg; i.n. = 24,4) subit nettement l'action du facteur lutéinisant injecté. Les follicules sont prélutéiniques. L'état crinogène est franc. On voit deux méroxanthosomes et un vieux corps jaune.

Femelle 428. — 3 injections; autopsie après 24 heures. L'ovaire (102 mg; i.n. = 19,1) est hépatisé. Les thèques folliculaires sont crinogènes. On note un beau méroxanthosome. Les corps jaunes, d'âge variable, se trouvent sur une autre coupe.


435
432
430
429
428

On est frappé de les trouver en pleine formation déjà après 24 heures, après une seule dose de 150 U.I. Dans les ovaires où les corps jaunes récents manquent, les méroxanthosomes abondent et sont de grande taille, parfois même kystiques lorsque l'hormone lutéinisante agit sur des follicules moyens et grands ayant encore conservé leur antrum. (cf. tableau VII).

Il m'a semblé que la réaction ovarienne n'est pas tout à fait la même suivant que l'animal se trouve au début ou à la fin du di-oestre. C'est surtout la présence et l'état des corps jaunes qui témoignent de cette différence; mais le nombre d'animaux étant trop restreint, il n'est pas permis de généraliser. Quatre femelles (433, 432, 430, 428) présentent des corps jaunes dits « récents », et pourtant deux d'entre elles seulement ont été injectées en fin de di-oestre (433, 428). Comment expliquer ce fait, sinon en admettant que, dans le premier cas, le rut a été avancé au niveau de l'ovaire sous le choc des gonadotropines injectées, alors que dans le deuxième cas, au contraire, la dégénérescence des corps jaunes provenant du rut précédent a été différée à la suite de l'action lutéinisante exogène augmentée et prolongée ?

Vagins et cornes utérines. — Au niveau du vagin, les femelles injectées en plein di-oestre restent dans cette phase après une seule injection et réagissent par un faible pro-oestre après deux injections. Mais si les femelles ont été traitées en fin de di-oestre ou en pro-oestre, — phase pendant laquelle normalement l'hormone auxogène prédomine — ce rut est coupé, inhibé par l'excès d'hormone lutéinisante. A la suite du trouble apporté au déroulement harmonieux des proportions fluctuantes des gonadotropines et des stéroïdes, les images vaginales sont atypiques. Les vagins restent fermés malgré la présence de nouveaux corps jaunes dans l'ovaire.

Au niveau des cornes utérines on est frappé de constater l'absence de synergie entre les oestrogènes et la progestérone. D'aspect presque normal, soit rondes, soit aplaties lors du rut coupé, elles ne sont ni frangées, ni vascularisées. Seul le chorion profond paraît plus dense que normalement et, à la troisième injection, les glandes commencent à se dilater. En général, il y a eu dysfonction avec effet de blocage.

En résumé: Les faits observés peuvent donc être présentés de la façon suivante: aux doses de 150 U.I. par jour, l'ovaire

reçoit subitement un excès d'hormone crinogène et y répond immédiatement par une atrésie folliculaire marquée (cf. phase lutéale des cycles), par la formation de méroxanthosomes et par l'hypertrophie du tissu interstitiel; et cela déjà après 24 heures. A noter qu'il n'y a pas eu de follicules hémorragiques lors de cette expérience de courte durée.

De plus, il n'est pas possible de juger de l'état du tractus génital à la seule vue de l'ovaire car:

— Le tractus génital, réagissant lentement aux hormones ovariennes — au minimum après 48 heures — n'a pas eu le temps de se modifier;
— Il y a eu blocage au niveau du tractus. En effet à la suite des atrésies crinogènes massives dans l'ovaire, le taux des oestrogènes se trouve au-dessous du seuil nécessaire à la stimulation du vagin et des cornes utérines. Ces organes auraient donc conservé leur état initial;
— C'est le moment de la première injection par rapport au cycle de ces femelles qui est très important.

Mais ce sont là trois interprétations beaucoup trop absolues, et en réalité il y a intervention de ces trois facteurs que j'ai essayé de dissocier.

b) *2 à 6 injections sur femelles de Cobayes hypophysectomisées* (fig. 25).

Dans cette série composée d'animaux opérés correctement, la courte durée du traitement a été volontaire et les animaux ont toujours été sacrifiés 24 heures après la dernière injection. Je n'ai pas vérifié l'influence de l'autopsie différée, estimant qu'en l'occurrence la différence du comportement entre les femelles normales et les femelles hypophysectomisées ne devait certainement pas avoir modifié fondamentalement les observations faites précédemment.

— Quatre femelles (313, 350, 387, 405) reçoivent 2 fois 150 U.I., soit 300 U.I.
— Une femelle (402) reçoit 4 fois 150 U.I., soit 600 U.I.
— Une femelle (401) reçoit 5 fois 150 U.I., soit 750 U.I.
— Deux femelles (288, 389) reçoivent 6 fois 150 U.I., soit 900 U.I.

La plupart des femelles âgées de trois mois et demi à quatre mois et demi pesaient en moyenne 450 g à l'opération et 410 g à l'autopsie. Une jeune adulte (313) ayant déjà eu deux ruts à l'âge de deux mois a été choisie en raison de sa bonne constitution et de son poids (435 g). Ces femelles ont été hypophysectomisées à différents moments du cycle, ce qui a permis de tirer des conclusions intéressantes surtout en ce qui concerne les Cobayes n'ayant reçu que deux injections. Les traitements ont débuté 5 à 7 jours, plus généralement 10 à 15 jours après l'opération.

Masculinisation et hyperféminisation :

Evidemment il ne peut être question de virilisation à la suite de deux ou trois injections. Mais chez les deux femelles (288, 389) ayant été traitées pendant une semaine, il est possible d'apercevoir les éminences blanches légèrement gonflées, à condition de forcer un peu le clivage. Le début de la masculinisation se situe alors à la 6e injection.

Si les mesures absolues des mamelons les font paraître gros, il ne faut cependant pas oublier qu'il s'agit de femelles adultes et que la régression des organes après hypophysectomie est relativement lente. D'ailleurs quelques injections de gonadotropines sont incapables de provoquer une stimulation au niveau de ces organes. Aussi les mamelons ne sont-ils jamais turgescents.

TABLEAU VIII.

Rapport entre la durée du traitement l'index nucléaire et le poids relatif de l'ovaire (mg%).

N° de la femelle	Nombre d'injections	i. n.		Poids relatif ovarien %	
313	2	32,4	Moyenne 28,6	17,8	Moyenne 14,9
350		32,5		11,6	
387		25,6		15,1	
405		24,2		14,9	
402	4	18,5		28,5	
401	5	15		30,6	
288	6	14,5		28,0	32,7
389		14		36,6	

Examen histologique :

A première vue on note que les poids relatifs des ovaires augmentent avec la dose et que parallèlement, les index nucléaires baissent progressivement (cf. tableau VIII).

Mais pour comprendre les grandes différences individuelles des index nucléaires des quatre femelles autopsiées après deux injections, il faut prendre en considération le moment de l'opération par rapport au cycle — la durée de survie n'intervenant que secondairement (fig. 26).

— Deux femelles (313, 350), hypophysectomisées en plein dioestre (index nucléaire élevé), présentent à l'autopsie des valeurs de l'index nucléaire identiques (32,5 et 32,4), bien que la première injection ait été faite après un délai de 5, respectivement de 10 jours.

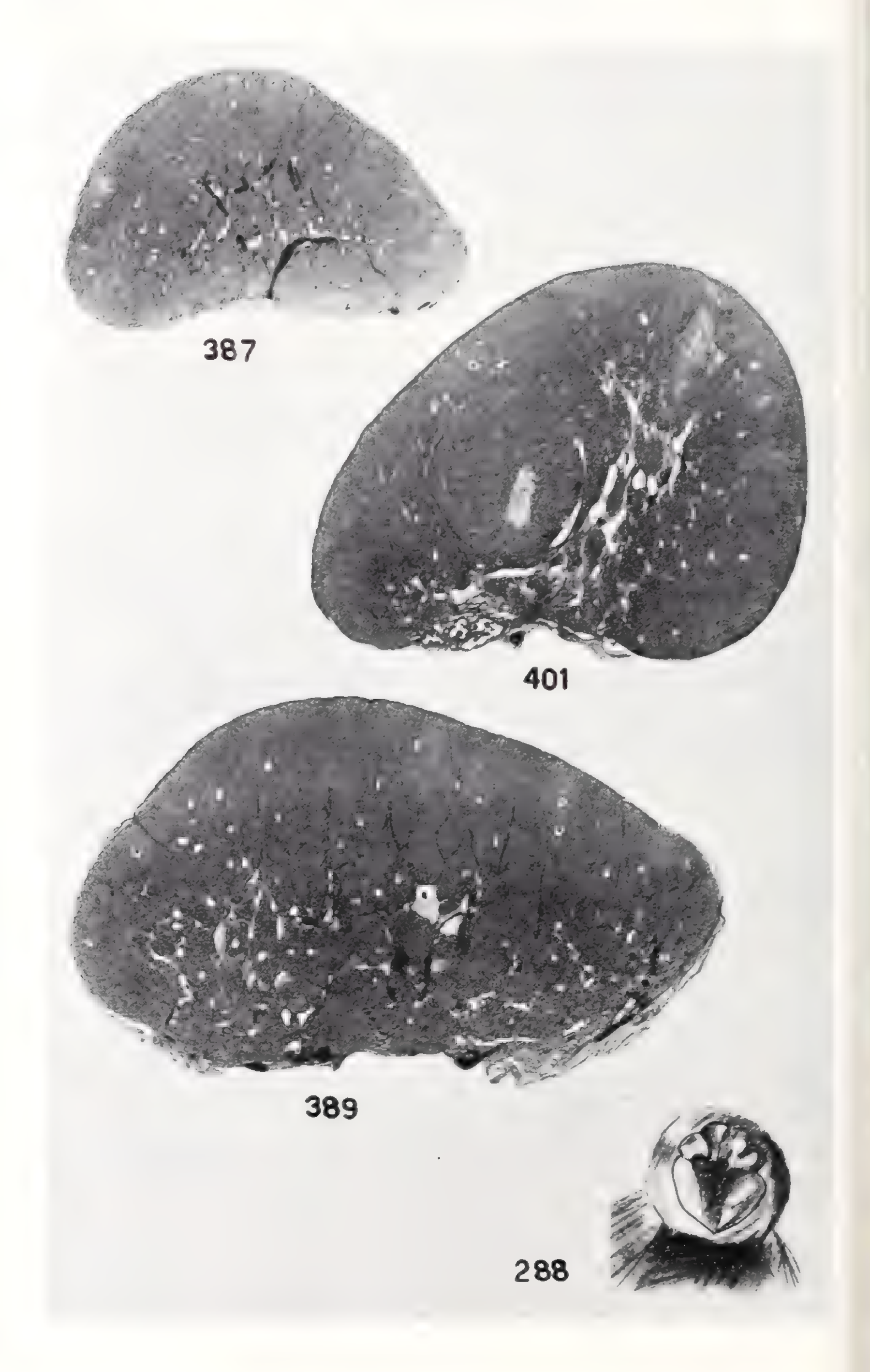
— Deux autres femelles (387, 405), opérées le 2e et le 4e jour du cycle (index nucléaire bas) présentent des valeurs nettement plus basses (24,2 et 25,6), la période de repos intermédiaire ayant été pourtant de 11, respectivement de 15 jours.

Il semble que cette distinction subtile s'estompe au fur et à mesure que le traitement se prolonge. A longue échéance elle finit par être complètement masquée par le jeu d'autres influences sur l'ovaire.

On ne doit pas trop s'étonner de voir tantôt des corps jaunes frais, tantôt des corps jaunes déformés, ou de constater l'absence de corps jaunes, car les femelles n'ont pas été toutes opérées et injectées rigoureusement dans les mêmes conditions par rapport à leur cycle.

Il est beaucoup plus intéressant d'observer l'état crinogène hépatisé qui s'est déjà établi après 2 injections (300 U.I.), ainsi que le nombre très élevé d'atrésies et l'absence de follicules III intacts, comme il se doit après une hypophysectomie correctement effectuée et en l'absence de tout facteur folliculo-stimulant. Le tissu crinogène n'est, en général, pas très soudanophile, ce qui constitue un indice de sa déplétion post-opératoire, accentuée encore par l'activation crinogène.

En dernier lieu, la présence de quelques petits méroxanthosomes abortifs à la 5e injection et la tendance nette à leur formation à la 6e injection dans un ovaire entièrement hépatisé, cons-


387
401
389
288

tituent des faits de la plus grande importance, car ils correspondent à l'effet indiscutable d'une action folliculo-stimulante directe qui protège la granulosa et ne peut provenir que du produit injecté.

On sait qu'au niveau du tractus, le seuil de sensibilité du vagin et des cornes utérines aux stéroïdes est généralement assez élevé après hypophysectomie. D'une part, ces organes continuent leur régression à la suite de l'hypophysectomie, malgré les injections d'hormones gonadotropes et d'autre part, les stéroïdes femelles sécrétés par les formations ovariennes aberrantes, non désirées — que sont les méroxanthosomes — ne suffisent pas encore à stimuler les organes cibles. Tous les vagins sont donc en di-oestre avec aplasie et les cornes utérines sont légèrement arrondies, parfois à épithélium « ondulé » avec quelques cinèses superficielles.

Considérant les corps jaunes actifs persistants, on s'attendait à trouver un épithélium rectiligne (post-oestre). Les effets observés dans cette série doivent alors être attribués aux androgènes, présents très tôt après les premières injections et responsables des cinèses dans les cornes utérines.

En résumé: l'hépatisation crinogène, soudanophobe, est proportionnelle à la dose injectée et au temps écoulé depuis l'hypophysectomie. Contrairement aux résultats de la série non opérée soumise à des traitements de courtes durées, l'ovaire réagit déjà après deux injections. Quelques corps jaunes persistent. L'apparition des premiers petits méroxanthosomes à la 6[e] injection parle en faveur de l'action de l'hormone hypophysaire gravidique. Le

FIG. 25.

Doses quotidiennes de 150 U.I.

Femelle 387. — Opérée à l'âge de 22 semaines; repos de 15 jours; 2 injections. L'ovaire (61 mg; i.n. = 25,6) est très vascularisé et complètement hépatisé. Le tissu interstitiel crinogène est soudanophobe. Absence de méroxanthosomes.

Femelle 401. — Opérée à l'âge de 20 semaines; repos de 12 jours; 5 injections. L'ovaire (137 mg; i.n. = 15), hépatisé, contient quelques très petits méroxanthosomes et des corps jaunes.

Femelle 389. — Opérée à l'âge de 22 semaines; repos de 12 jours; 6 injections. L'ovaire (141 mg; i.n. = 14), entièrement hépatisé, montre une nette tendance à la formation de méroxanthosomes. Le tissu crinogène est faiblement soudanophile.

Femelle 288. — Opérée à l'âge de 12 semaines et demie; repos de 7 jours; 6 injections.
On observe un début de masculinisation.

tractus est en di-oestre. Egalement à la 6e injection on a pu noter les premiers signes de masculinisation.

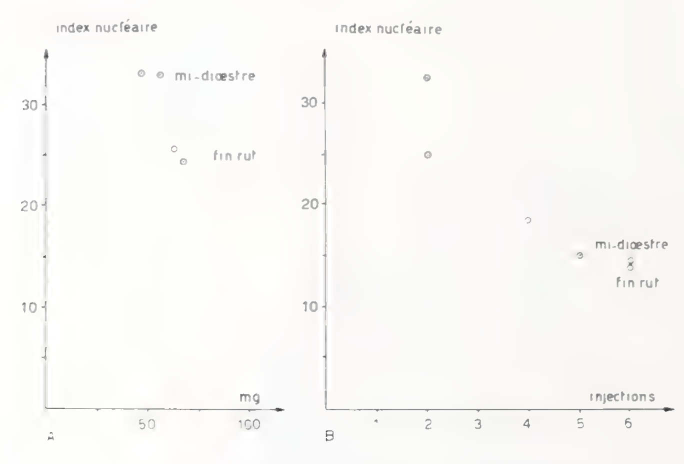


Fig. 26.

Femelles de Cobayes hypophysectomisées recevant 150 U.I. par jour.
A. Après 2 injections: rapport entre l'index nucléaire, le poids de l'ovaire et le jour du cycle à l'opération.
B. Rapport entre l'index nucléaire et le nombre d'injections.

2) *Traitement de longue durée*

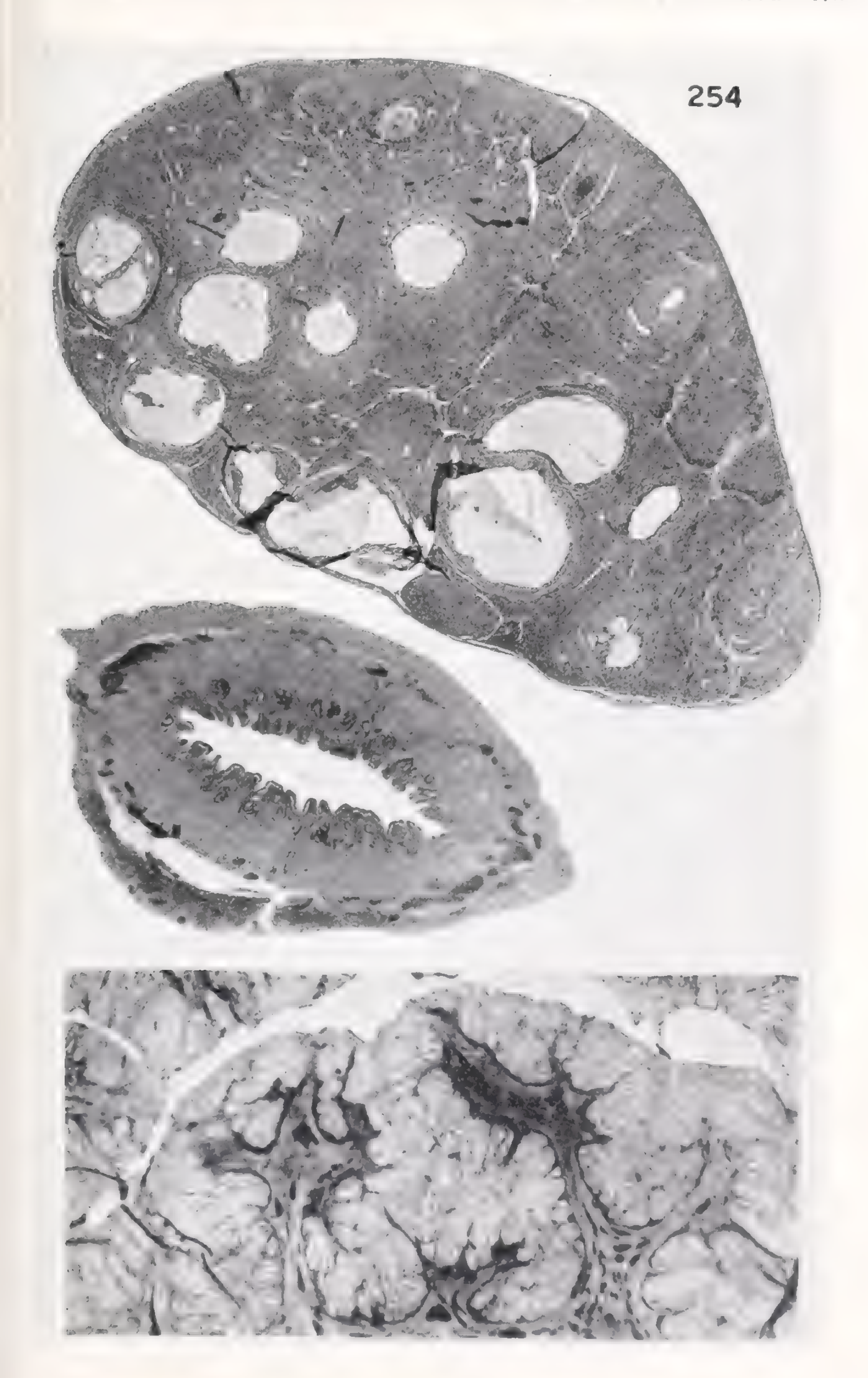
a) *12, 20 ou 22 injections sur femelles de Cobayes normales* (fig. 27, 28, 29).

Cette série est très peu homogène du fait qu'il s'agit de femelles témoins d'expériences entreprises à différentes époques, ce qui a rendu assez difficile le groupement judicieux de ces animaux.

— Deux femelles sœurs adultes (254, 255), traitées pendant trois semaines, devaient servir à démontrer la différence de réponse de l'ovaire aux doses quotidiennes de 75 U.I., respectivement de 150 U.I. (doses totales de 1.650 U.I. et de 3.300 U.I.) (fig. 27).

Fig. 27.

Femelle 254. — Autopsiée à l'âge de 17 semaines et demie; 22 injections de 75 U.I.
L'ovaire (330 mg; i.n. = 12,7) est énorme, partiellement accoutumé et contient des méroxanthosomes. La croissance exagérée des follicules lui donne un aspect « en dentelle ».
Le tractus est stimulé selon le type « progestérone-androgène »; les cornes utérines sont frangées, à tendance polypeuse; le vagin est hypermucifié, sans stratification.


254

— Deux femelles impubères (169, 152) auraient dû recevoir 20 injections de 150 U.I. pour permettre la comparaison du comportement entre femelles adultes et femelles impubères. Mais l'expérience tombait en plein changement de nourriture et l'une d'elles, ne supportant pas le régime d'hiver, a succombé à la 12e injection (169) (fig. 28).

— Alors que les quatre Cobayes précédents avaient été utilisés en automne, la dernière femelle (345) a reçu la dose totale de 3.000 U.I. en 20 fois en été. Elle a prouvé que la capacité de réaction des gonades aux injections de gonadotropines était aussi fonction de la saison, comme la série des 10 U.I. l'avait déjà indiqué (fig. 29).

Du moment que chaque animal constitue en quelque sorte un cas indépendant, et qu'il n'est pas possible de nuancer les résultats en tirant des moyennes d'un groupe d'animaux, il faut multiplier les critères et essayer de faire ressortir les différents facteurs intervenant au cours des équilibres hormonaux complexes et multiples. L'index nucléaire seul ne suffira donc plus, et il faudra faire intervenir la dose relative des gonadotropines administrées.

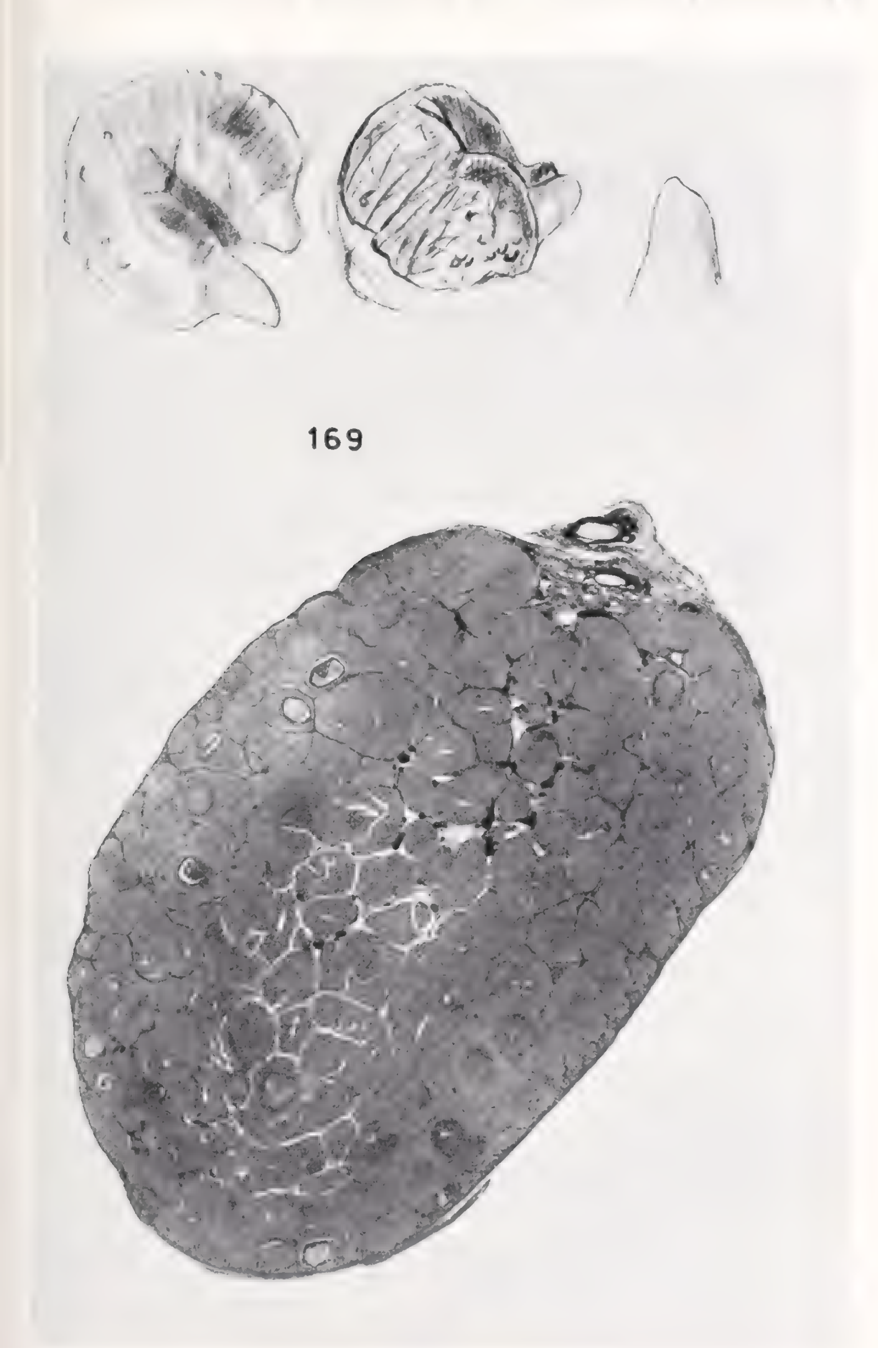
Masculinisation et hyperféminisation:

Chez les femelles prépubères (169, 152), la virilisation commence un peu plus tard que chez les femelles adultes (8e jour), et, en fin d'expérience, elle est à peine plus prononcée chez les adultes (odontoïdes).

La différence entre les doses quotidiennes n'intervenant pas, seule la durée du traitement est déterminante: après 12 injections (169), le clitoris, encore peu dévaginable, présente déjà quelques odontoïdes et des crochets de taille moyenne. C'est aussi l'unique femelle de cette série à posséder de petits mamelons; car toutes les autres ont subi une hyperféminisation tardive d'autant plus forte que la femelle était plus âgée et le traitement plus long.

Fig. 28.

Femelle 169. — Impubère; 12 injections de 150 U.I. La masculinisation est sur la bonne voie et les mamelons sont encore restés petits.
L'ovaire (277 mg; i.n. = 8,6), énorme, hépatisé, n'est pas encore accoutumé. Il possède des méroxanthosomes, quelques petits follicules étranglés dans un tissu théco-interstitiel crinogène très soudanophile.


169

Examen histologique :

Ovaires. — Les gonades sont énormes et atteignent chez la femelle impubère (169) un poids relatif de 12 ‰ au milieu du traitement, avant toute accoutumance.

Comme il a été dit plusieurs fois, l'index nucléaire traduit l'état physiologique du tissu interstitiel au moment de l'autopsie, en mesurant essentiellement l'action du facteur crinogène.

Dans le tableau IX j'ai essayé de faire ressortir les relations existant entre l'index nucléaire et l'état histologique de l'ovaire dû au facteur lutéinisant, la pseudo-lutéinisation étant toujours très forte, mais variable, quelles que soient les conditions d'expérience :

Tableau IX.

Rapport entre l'âge de l'animal, le traitement et l'index nucléaire avec l'histologie ovarienne partielle.

Dose	Femelles		Saison	Ovaire			
						Etat histologique *	
	Age	N°		i.n.	Poids mg	Tissu théco-interstitiel	F.H. **
12 × 150 U.I.	impub.	169	hiver	8,6	277	hépatisation crinogène, sans lipides	+
22 × 75 U.I.	adulte	254	hiver	12,7	330	accoutumance partielle faible, soudanophilie faible	—
22 × 150 U.I.	adulte	255	hiver	12,1	216	hépatisation crinogène, début de soudanophilie	+
20 × 150 U.I.	impub.	152	hiver	14,1	200	hépatisation, début accoutumance	+
20 × 150 U.I.	adulte	345	été	20	107	accoutumance forte	—

* Sans tenir compte de l'état des follicules.
** F.H. = follicules hémorragiques.

12 injections de 150 U.I. ont causé la plus forte activité jamais observée, l'index nucléaire de 8,6 étant la valeur mesurée la plus basse, et l'accoutumance ne débutant au plus tôt qu'après 15 jours de traitement. L'ovaire est entièrement hépatisé, aucune action

folliculo-stimulante ne s'est encore fait sentir. Il ne faut pas oublier que la dose relative initiale a été, dans ce cas particulier, une des plus fortes.

Les trois femelles (254, 255, 152) traitées pendant trois semaines en hiver présentent des index nucléaires très voisins, indépendamment de l'âge de l'animal et de la dose quotidienne. Mais l'étude histologique de leurs gonades apprend qu'à 75 U.I. par jour (254) il n'y a pas de follicules hémorragiques (F.H.), alors qu'il y en a chez les deux autres femelles (cf. tableau IX). En outre, l'accoutumance au facteur crinogène a déjà commencé, en raison de la plus faible quantité d'hormone à neutraliser.

Pourquoi alors la femelle adulte (345) traitée en été, et dont le tissu interstitiel est constitué de petites cellules très soudanophiles, ne possède-t-elle pas de follicules hémorragiques, et pourquoi son accoutumance est-elle complète? Tout laisse croire que la réponse ovarienne se fait plus vite, et dans des limites plus proches de la normale, en été, saison de reproduction, qu'en hiver.

Au cours de l'examen histologique détaillé, j'ai été frappée par la présence de follicules hémorragiques et par une stimulation folliculaire qui semblent apparaître au hasard. Il est alors nécessaire de faire intervenir la « dose relative initiale » exprimée en U.I. par 100 grammes de poids du corps par jour pour élucider les différences dans le comportement de ces femelles (cf. tableau X).

Ce sont les deux femelles adultes (254, 345), et dont la dose relative est basse, qui n'ont pas de follicules hémorragiques. Elles ont donc reçu des taux de gonadotropines tels que le facteur folliculo-stimulant est devenu prédominant et que le rapport entre l'hormone auxogène et l'hormone crinogène n'a pas été favorable à l'évolution hémorragique des follicules en croissance. La dose totale administrée semble ne pas intervenir directement, ou seulement en second lieu.

En ce qui concerne la femelle dont la dose relative n'est que de 22 (254), elle a présenté une réaction en « dentelle » dans un ovaire partiellement accoutumé. Par ce terme, on désigne l'aspect que prend un ovaire sur les coupes histologiques lorsqu'il possède un nombre excessif de follicules de grande taille, souvent prélutéiniques et situés en général à la périphérie de la gonade et que les atrésies crinogènes commencent à se recharger de lipides soudanophiles.

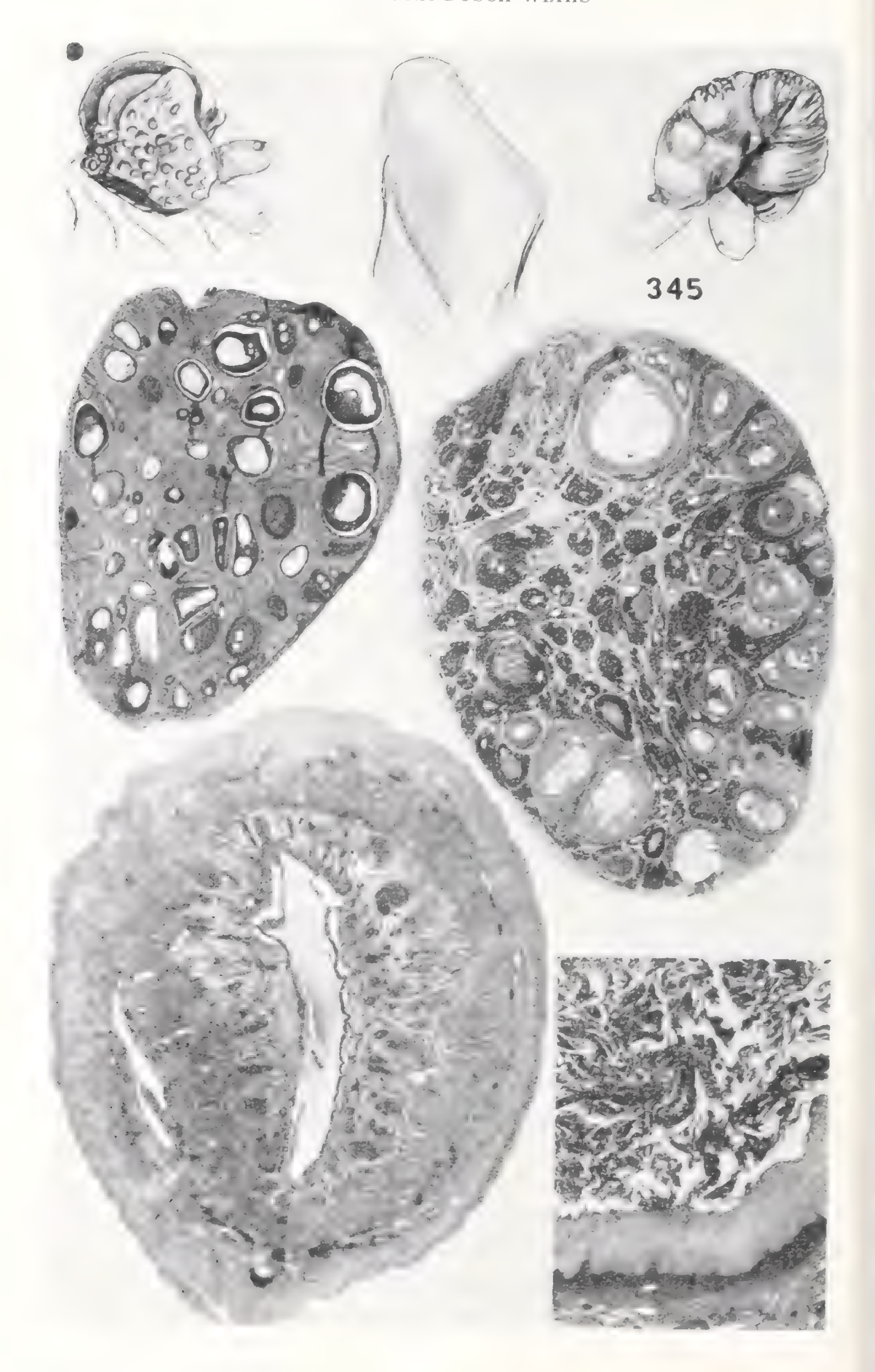

345

TABLEAU X.

Rapport entre l'âge de l'animal, le traitement et la dose relative (D. R.) avec histologie ovarienne partielle.

Dose	Femelles — Age	Femelles — N°	Saison	D.R.	Ovaire — Action folliculo-stimulante	Ovaire — FH *	Ovaire — Accoutumance	Equilibre hormonal FSH ** / LH
22×75 U.I.	adulte	254	hiver	22	dentelle	—	partielle	fort / faible
20×150 U.I.	adulte	345	été	31	qq. gros follicules	—	complète	physiologique
22×150 U.I.	adulte	255	hiver	43	dentelle locale	+	partielle	faible / fort
12×150 U.I.	impub.	169	hiver	68	—	+	—	faible / fort
20×150 U.I.	impub.	152	hiver	77	—	+	début	faible / fort

* FH = follicule hémorragique.
** FSH = facteur folliculo-stimulant.
LH = facteur lutéinisant.

Comme le seuil acmogène est très bas, et vite masqué lors d'injections de quantités trop considérables de gonadotropines lutéinisantes, il n'est plus surprenant de constater chez la femelle complètement accoutumée (et qui a reçu une dose relative plutôt faible), l'apparition d'un rut qui, sous l'influence d'un traitement continu, devient permanent.

La croissance folliculaire ne fait que commencer chez les trois autres femelles. Mais toutes les trois — même celle qui se trouvait au milieu du traitement (169) — possèdent déjà des follicules hémorragiques. L'accoutumance nulle ou faible de leurs gonades énormes pesant en moyenne 230 mg (94 %) laisse entrevoir l'action crinogène forte persistant jusqu'à la fin de l'expérience à côté

FIG. 29.

Femelle 345. — Autopsiée à l'âge de 19 semaines et demie; 20 injections de 150 U.I.

La masculinisation est bonne sans être excessive et les mamelons sont stimulés.

L'ovaire (107 mg; i.n. = 20), entièrement accoutumé, réagit par la forte croissance d'un grand nombre de follicules qui déclenchent un rut typique au niveau du tractus.

d'une action auxogène qui, sans doute, va en augmentant. Il faut en conclure que les deux hormones gonadotropes ont réalisé très tôt les proportions propices au développement des follicules hémorragiques.

Vagin et cornes utérines. — A l'exception de l'unique femelle (345) entièrement accoutumée, injectée en été, et dont les hormones gonadotropes endogènes additionnées du facteur auxogène injecté de façon chronique ont conditionné un rut permanent au niveau des cornes utérines et du vagin pendant les 13 derniers jours de l'expérience, toutes les femelles traitées en hiver — indépendamment de la dose quotidienne, de la dose totale et du nombre d'injections — présentent en fin d'expérience une hypermucification vaginale importante, allant de pair avec une stimulation des cornes utérines dont l'épithélium est frangé, à tendance polypeuse très marquée, caractéristique d'une évolution dans le sens glandulo-kystique, ces deux stéroïdes étant cinétogènes, malgré l'antagonisme entre androgènes et oestrogènes.

En résumé: une femelle, recevant 12 injections, révèle par son ovaire énorme, non accoutumé, pseudo-lutéinisé, ainsi que par l'aspect du clitoris et des mamelons, que la sécrétion des androgènes a été forte et que l'hyperféminisation est encore nulle. La concordance entre l'histologie et la réaction périphérique est parfaite.

La masculinisation est très nette et commence à la 8e ou 9e injection. Les quatre femelles traitées pendant 3 semaines ont des réactions individuelles bien déterminées qui s'expliquent par les nettes différences des conditions d'expériences. Toutes les conclusions qui sont discutées en détail concordent; c'est-à-dire la présence des follicules hémorragiques, l'accoutumance au facteur crinogène et le rut permanent.

Enfin, l'hyperstimulation des mamelons et des cornes utérines, ainsi que l'hypermucification vaginale témoignent de l'hyperféminisation aberrante tardive.

b) *20 injections sur femelles de Cobayes hypophysectomisées* (fig. 30, 31, 32).

Cette expérience, bien que décrite en dernier lieu, comprend les quelques groupes traités au début de mon travail. Les femelles ont été choisies soigneusement pour rendre l'ensemble des résultats aussi homogènes que possible. Pourtant cette série s'est avérée

être la plus difficile à interpréter. C'est elle qui m'avait obligée à revoir entièrement les critères de l'hypophysectomie. Souvent il a même fallu faire appel aux courbes des dosages métaboliques, l'étude histologique seule ne suffisant plus tout à fait pour trancher la question de l'éventualité d'un reliquat hypophysaire.

Devant des résultats aussi discordants que ceux observés, j'ai dû entièrement repenser le sujet du travail et imaginer ce que chaque élément recueilli signifie du point de vue de la sécrétion, de l'équilibre et de l'action hormonale. Souvent j'aurais souhaité connaître le rôle que jouait la surrénale.

Les 11 femelles de Cobayes adultes, dont il sera question, étaient âgées de trois mois à quatre mois et demi. L'hypophysectomie ne tombait pas toujours sur le même jour du cycle, mais pratiquement toutes les femelles ont été injectées 10 jours plus tard, ce qui a porté la survie totale à 32 jours.

En rassemblant toutes les observations, j'ai été obligée de distinguer trois groupes à réaction typique. Le rôle joué éventuellement par la pars tuberalis reste obscur, alors que celui des reliquats hypophysaires (troisième groupe) ressort nettement. « Il faut distinguer 2 types de réactions sans relation aucune avec la présence ou l'absence de résidus de pars tuberalis suprasellaire » (K. Ponse 1958). Je ne peux pourtant pas m'associer à une affirmation aussi catégorique, du moment que la seule présence de trois types de réactions, aussi bien définis, semble parler en faveur d'une intervention de la pars tuberalis dans l'équilibre hormonal, peut-être seulement à long terme.

Type I. — Quatre femelles totalement hypophysectomisées (339, 335, 225, 336). Dans un cas seulement un très petit résidu de pars tuberalis sans kyste a été retrouvé (336).

Type II. — Quatre femelles sub-totalement hypophysectomisées (351, 342, 346, 348). Des portions importantes de pars tuberalis, restées à la tige, ainsi qu'un petit nombre de cellules actives ont été décelées.

Reliquats: — Trois femelles partiellement hypophysectomisées (279, 347, 378), avec des quantités variables de pars anterior:

— Dans un cas l'échec de l'opération était évident déjà au cours du traitement, et le reliquat hypophysaire, trouvé à l'autopsie

(environ ¼), n'a fait que confirmer les soupçons nés à la suite du comportement anormal de cette femelle (279).

— Dans un autre cas (378), un gros résidu de pars tuberalis était bordé de cordons cellulaires du type de la pars anterior, devenus tardivement actifs, surtout au niveau des gonades, puisque le poids relatif des surrénales (30%) et des thyroïdes (10%) était satisfaisant.

— En ce qui concerne la troisième femelle (347), la découverte à l'autopsie d'un tissu spongieux remplissant tout l'espace laissé libre par l'hypophysectomie — alors que la glande avait été visiblement extirpée — m'a vivement étonnée. S'agit-il d'un régénérat atteignant les ¾ de la taille de la glande initiale chez cette femelle, la seule où j'avais laissé un tampon de « GELFOAM » dans le trou de trépanation ? Toujours est-il que, fonctionnellement, il a joué le même rôle qu'un vrai reliquat hypophysaire.

Masculinisation et hyperféminisation :

A l'exception des deux femelles à vrai reliquat hypophysaire (378, 279), la masculinisation débute tôt. A la 6e - 7e injection on découvre des éminences blanches qui se séparent en crochets à la 8e - 10e injection. La croissance du clitoris est très marquée et continue jusqu'à la fin. A l'autopsie, on observe différents degrés de virilisation qui correspondent aux trois groupes de femelles.

Type I. — Les odontoïdes recouvrent abondamment les côtés latéraux d'un clitoris excessivement dévaginable, ainsi que les extrémités des crochets qui sont très grands.

Type II. — Toutes les différentes parties du clitoris se sont un peu moins développées et la virilisation correspond à un degré relativement fort.

Reliquats : — Dans ce groupe les difficultés de dévagination sont d'autant plus grandes que l'hypophysectomie est moins complète. La virilisation a été retardée et n'apparaît qu'à la fin de la deuxième semaine du traitement.

A première vue, les mamelons de cette série paraissent grands, mais ils sont souvent flasques. Une stimulation dans le sens d'une hyperféminisation n'est vraiment positivement constatée que dans

le groupe des femelles présentant de vrais reliquats hypophysaires, sans que la turgescence s'accompagne toutefois de la moindre sécrétion de collostrum.

Examen histologique:

Type I. Femelles complètement hypophysectomisées: (fig. 30).

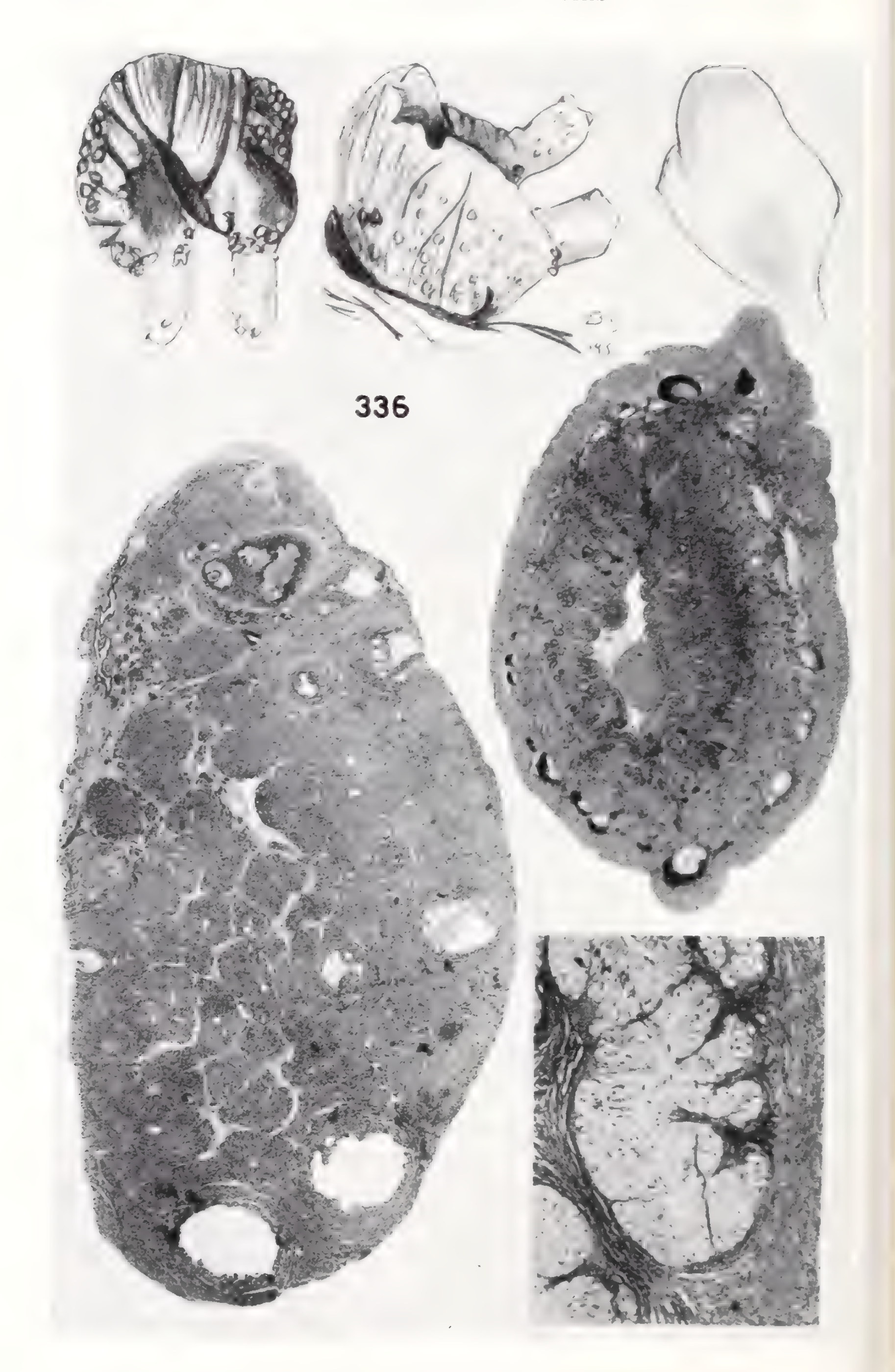
On est immédiatement frappé par la dimension excessive des ovaires pesant en moyenne 233,5 mg (55%).

L'index nucléaire oscille très peu autour d'une moyenne de 10,6 (9,8 à 11,6) ce qui est très bas, après trois semaines de traitement. Ces valeurs dispersées peuvent être mises en rapport avec l'état d'accoutumance variable et imparfaite, jamais complète, mais toujours présente. L'effet crinogène initialement, très important, a déjà été légèrement affaibli. La soudanophilie est discrète.

Il faut voir la raison de l'augmentation pondérale énorme des ovaires dans l'action nette d'une stimulation folliculaire secondaire aboutissant, sous l'effet de l'hormone crinogène, à des follicules prélutéiniques disposés « en dentelle » et à toutes les formes intermédiaires allant jusqu'aux méroxanthosomes même hémorragiques ou kystiques, ainsi qu'aux follicules hémorragiques. Mais il n'y a pas de corps jaunes, comme du reste dans la série des femelles témoins non hypophysectomisées.

La proportion des deux hormones gonadotropes semble être différente dans chaque femelle, mais les deux hormones sont toujours facilement décelables. Les gros follicules prélutéiniques presque kystiques témoignent, comme on le sait, de la synergie de quantités anormales d'hormones auxogène et crinogène. Un fait doit être souligné: l'action du facteur lutéinisant persiste jusqu'à la fin. Les kystes du rete ovarii ne sont pas rares.

Les vagins sont plus ou moins hypermucifiés, et la stratification sous-jacente paraît avoir été inhibée. Ce sont, assez curieusement, les deux femelles (336, 339) les moins accoutumées qui ont eu une ouverture vaginale la veille de l'autopsie, et dont la sécrétion utérine est relativement considérable. D'ailleurs toutes les cornes utérines sont stimulées, arrondies et présentent des glandes dilatées et un épithélium pseudo-pluristratifié très frangé.


336

Type II. Femelles subtotalement hypophysectomisées: (Reliquats de *Pars Tuberalis*) (fig. 31, 32).

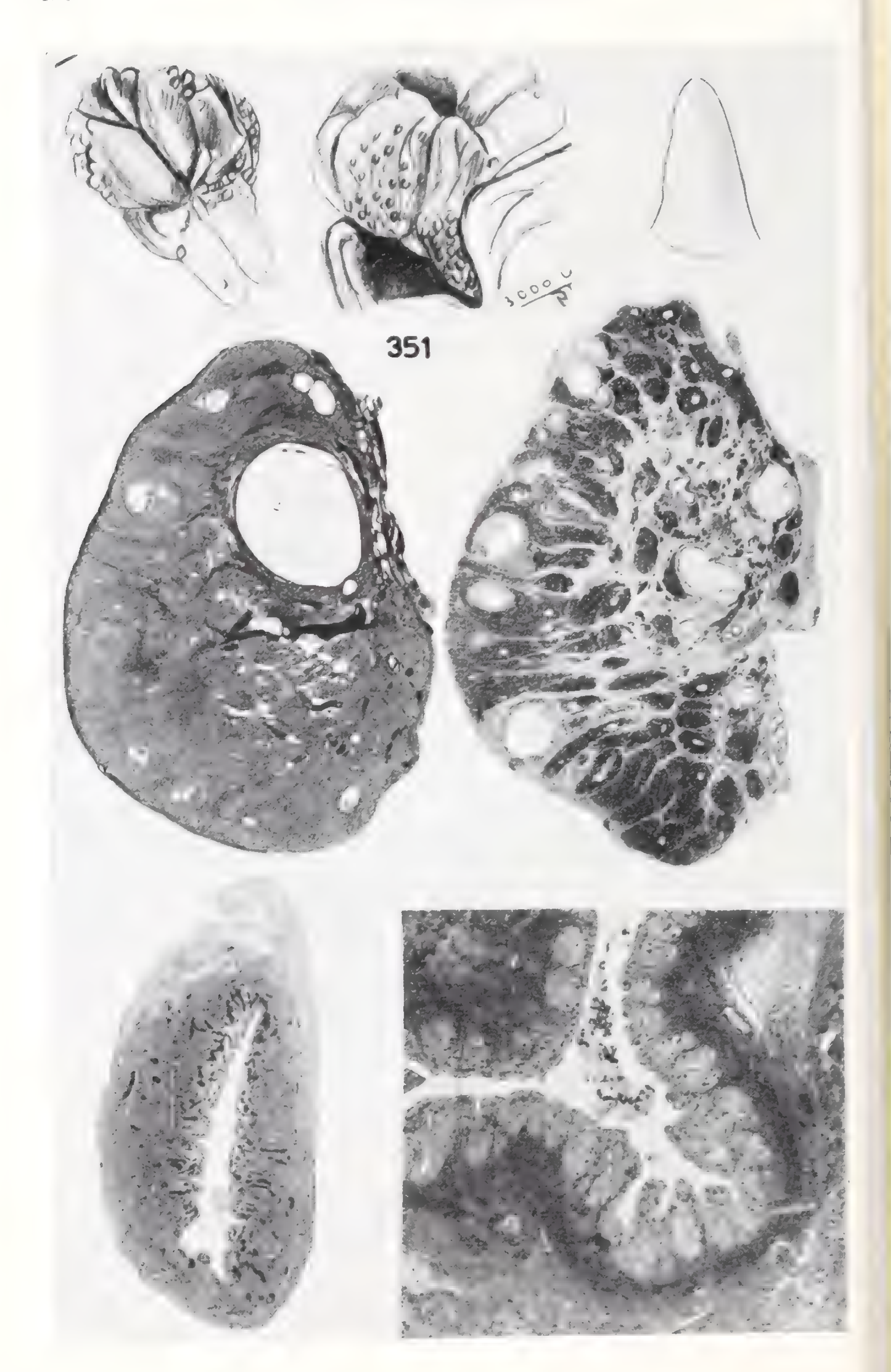
Tous les ovaires sont petits, de poids absolu moyen de 82 mg seulement (17%). Les index nucléaires, beaucoup plus élevés que dans le groupe précédent, sont relativement variables: 12,3 (342) - 16,2 (346) - 17,3 (351) - 21,6 (348). Pourtant l'accoutumance est nette chez toutes les femelles et la soudanophilie ovarienne très forte, sauf pour la femelle à index nucléaire le plus bas. A en juger par la stimulation folliculaire nette, mais pas très prononcée, l'accoutumance a dû avoir lieu tardivement, ne permettant pas au facteur auxogène de se manifester plus tôt. Ces petits ovaires ne présentent ni méroxanthosomes, ni grands follicules, et surtout jamais de follicules prélutéiniques. Les follicules de taille moyenne ne sont pas très fréquents et c'est le nombre de petits follicules normaux qui indique l'inhibition de la croissance folliculaire jusqu'à la neutralisation complète du facteur crinogène par l'accoutumance.

Dès lors, il est normal de constater que, parallèlement à cette nouvelle poussée de jeunes follicules — assez comparable au stade prépubéral — le tractus se trouve dans un état de pro-oestre plus ou moins physiologique aboutissant en fin d'expérience à un rut presque normal, pourtant avec des ouvertures prolongées. Le metoestre atypique de la femelle (346) dont le vagin a été fermé à nouveau les 5 derniers jours consécutifs au rut, peut s'expliquer par plusieurs faits: Les doses quotidiennes de 150 U.I. sont extraphysiologiques, chroniques. Dans l'ovaire il n'y a pas de corps jaunes — à plus forte raison pas de « présence exclusive de corps jaunes » — comme chez les femelles normales, non traitées, juste

---

Fig. 30.

Femelle 336. — Opérée à l'âge de 15 semaines et demie; repos de 10 jours; 20 injections de 150 U.I. (type I)
La masculinisation est très prononcée; les mamelons sont de taille normale pour une adulte.
L'ovaire (288 mg; i.n. = 9,8), énorme, est encore entièrement hépatisé, l'accoutumance étant faible. Il possède en outre des méroxanthosomes et des follicules hémorragiques. On est en présence d'une action folliculo-stimulante nette et d'une action lutéinisante moyenne.
Les cornes utérines sont stimulées (frangées, avec pseudo-pluristratification)
Le vagin s'ouvre l'avant-dernier jour de l'expérience; il est hypermucifié à l'autopsie.


351

après le rut. Enfin, la faible stratification vaginale permet de déceler également la forte action des androgènes.

Ces différents mécanismes ont donc concouru à empêcher le retour au di-oestre.

Les cornes utérines de ce groupe sont plates, peu frangées, en pro-oestre, à l'exception de la femelle (348) dont le vagin vient de se fermer, le rut s'étant déroulé à partir de la 16e injection seulement. Dans ce dernier cas, les cornes utérines réagissent à la présence des deux groupes de stéroïdes ovariens réunis (androgènes, oestrogène), par la formation de polypes, et tous les différents tissus sont fortement stimulés, conférant une forme arrondie à cet organe De plus, la présence de seulement un méroxanthosome dans l'ovaire indique une « insuffisance » de progestérone, hormone qui généralement s'oppose à l'évolution glandulo-kystique des cornes utérines.

Femelles incomplètement hypophysectomisées : reliquats.

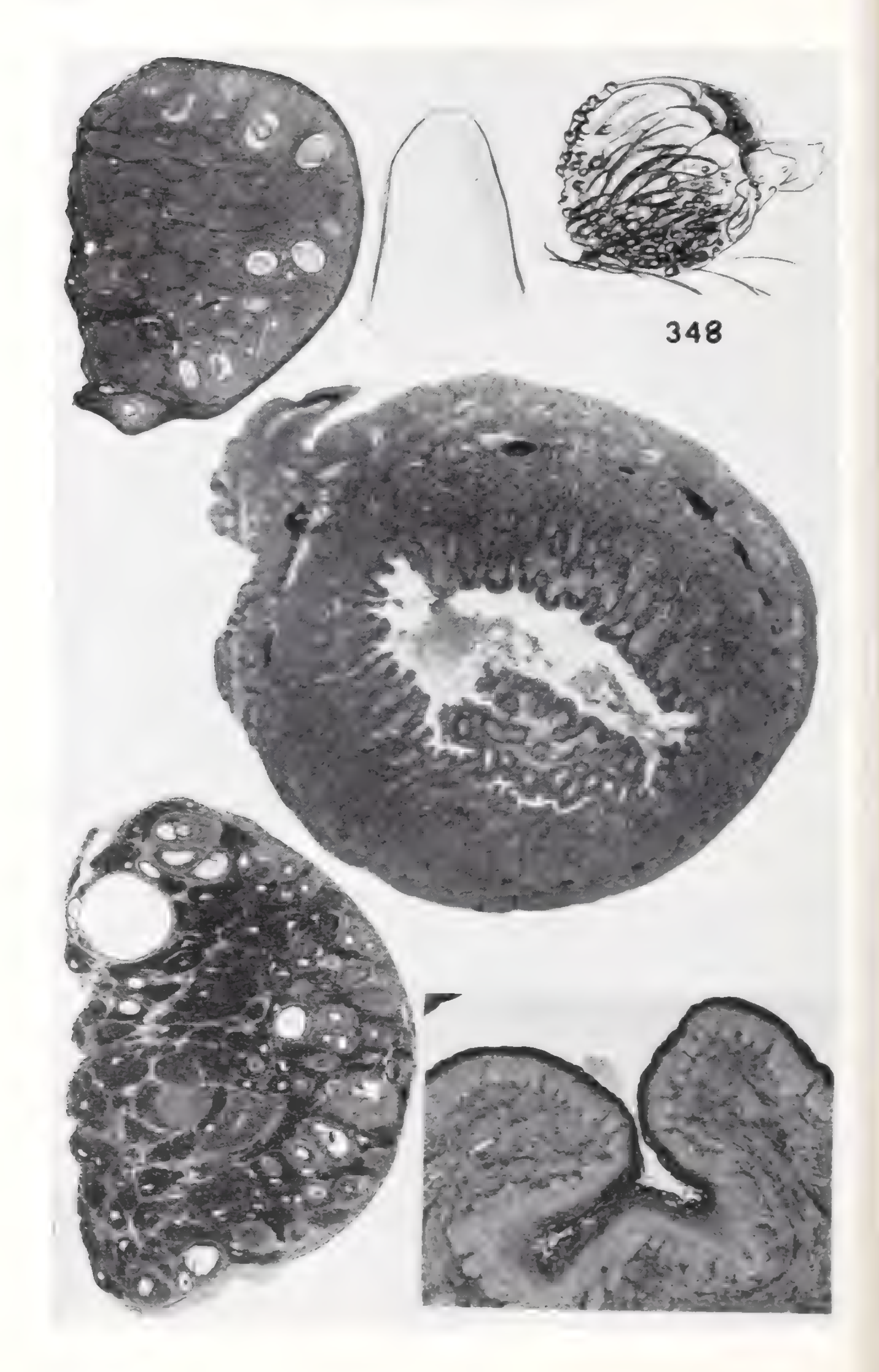
Les trois femelles présentent à nouveau des traits communs indiscutables. Dans l'ensemble, elles réagissent à peu près comme les femelles normales traitées par 150 U.I. par jour.

Les ovaires sont énormes: 414 mg (279) - 515 mg (378) - 302 mg (347). Leur poids relatif est d'environ 83 $^0/_0$. Les index nucléaires, très voisins les uns des autres, présentent une moyenne de 12,4. L'activité folliculo-stimulante forte va jusqu'à produire des dentelles chez la femelle partiellement opérée. L'accoutumance est variable et très faible, les méroxanthosomes s'observent fréquemment, de même que les follicules hémorragiques et les follicules prélutéiniques.

FIG. 31.

Femelle 351. — Opérée à l'âge de 18 semaines; repos de 10 jours; 20 injections de 150 U.I.; type II. On a retrouvé quelques cellules azanophiles actives suprasellaires.

Masculinisation et féminisation sont presque identiques à celles du type I. L'ovaire (90 mg; i.n. = 17,3) est grand, accoutumé, avec un kyste du rete ovarii et de rares follicules. Il s'agit d'une hépatisation crinogène avec action folliculo-stimulante modérée, provoquant un état de pro-oestre physiologique au niveau du tractus. La stratification vaginale est plus importante que dans le type I (fig. 30).


348

Les vagins des deux femelles à tissu régénéré présentent une hypermucification excessive, bien que l'une d'elles ait eu un rut physiologique de 3 jours à la 14e injection.

C'est dans le cas du vrai reliquat hypophysaire, où la reprise d'activité endocrine s'est faite très rapidement, que les équilibres hormonaux ont été les plus perturbés, ce qui se traduit par un rut permanent persistant déjà depuis 10 jours avant l'autopsie, avec stratification et kératinisation.

Résumé: en ce qui concerne la masculinisation, elle est très forte et complète chez les femelles correctement hypophysectomisées, plus faible chez les autres. On ne constate d'hyperféminisation aberrante qu'en cas de reliquats hypophysaires.

De cette série il faut surtout retenir que les animaux privés de toute leur hypophyse peuvent réagir de deux façons distinctes aux fortes stimulations par les gonadotropines choriales:

— La manifestation du facteur folliculo-stimulant, alors que l'accoutumance n'est encore que partielle et faible, entraîne un développement excessif des ovaires avec formation de tous les éléments anormaux caractéristiques des synergies folliculostimuline-hormone crinogène;

— Le facteur folliculo-stimulant n'agit qu'après neutralisation complète du facteur crinogène, ce qui, au moment de l'autopsie, a pour effet de ramener l'ovaire vers un état pseudo-normal plutôt que d'accentuer son état pathologique.

Que se serait-il passé si le traitement avait été prolongé? Aurait-on abouti à un état commun entre les deux groupes? Il est difficile de l'affirmer, comme il est assez difficile de savoir pourquoi une femelle a réagi plutôt d'une façon que d'une autre. Dans

---

Fig. 32.

Femelle 348. — Opérée à l'âge de 19 semaines; repos de 10 jours; 20 injections de 150 U.I.; type II. On a retrouvé une partie importante de pars tuberalis. La masculinisation est faible, la stimulation des mamelons est nette. L'ovaire (76 mg; i.n. = 21,6) est totalement accoutumé. On voit quelques méroxanthosomes, un kyste et quelques follicules jeunes, normaux. On est en présence d'une action folliculo-stimulante moyenne et d'une action lutéinisante faible.

Le tractus est stimulé jusqu'à un rut physiologique en fin d'expérience: les cornes utérines sont énormes; le vagin présente une réaction locale mixte du type « pro-oestre/oestre ».

l'ensemble, l'état des vagins et des cornes utérines correspond assez bien à l'état ovarien.

En ce qui concerne la participation de la pars tuberalis à l'équilibre hormonal on peut dégager un fait frappant, bien que statistiquement non valable, en raison du trop petit nombre d'animaux en expériences: chaque type de réaction présente des caractéristiques histologiques bien définies, et les groupes d'animaux sont homogènes entre eux. On note que le type I ne possède ni reliquat hypophysaire, ni pars tuberalis résiduelle. Le type II comprend trois femelles à pars tuberalis évidente et une femelle chez laquelle aucun tissu glandulaire n'a été retrouvé dans la selle turcique. Or, un petit ilot de quelques cellules seulement, mais actives et déjà suffisantes pour déplacer l'équilibre hormonal, peut avoir échappé à mon observation. Dans le troisième groupe on trouve en plus des deux femelles à reliquats hypophysaires, une autre femelle caractérisée par une pars tuberalis énorme.

Il est alors éventuellement permis d'introduire des considérations d'ordre purement quantitatif dans des raisonnements biologiques et physiologiques, et d'émettre — jusqu'à nouvelle preuve — une hypothèse selon laquelle la pars tuberalis, dans certaines conditions, devient le succédané de l'hypophyse dans le cas des hormones gonadotropes.

3) *Conclusions des expériences utilisant des doses fortes*

La plupart des animaux, dans cette expérience, ont également servi aux dosages urinaires exécutés par des chimistes. Mais le domaine de mon sujet de travail m'a obligée à trouver des explications et relations d'équilibres hormonaux en me basant essentiellement sur les observations histologiques, sans tenir compte des résultats des dosages métaboliques. Il faut alors se souvenir que:

— les oestrogènes ovariens sont sécrétés par la thèque des éléments folliculaires qu'ils soient normaux, prélutéiniques ou sous forme de méroxanthosomes.
  Ces stéroïdes femelles agissent sur le vagin en provoquant une mucification modérée, la stratification et la kératinisation (Grigouroff 1941).

— la progestérone ovarienne est sécrétée par la granulosa soit des follicules prélutéiniques, soit des vrais corps jaunes, soit des méroxanthosomes à fins lipides.

Cette hormone agit sur l'épithélium vaginal en inhibant la stratification (donc pas de kératinisation).

— les androgènes ovariens sont sécrétés par les thèques crinogènes et le tissu théco-interstitiel crinogène provenant d'anciennes atrésies. Ils agissent sur le vagin, seulement aux très fortes doses, en provoquant la mucification.

Au niveau des cornes utérines la synergie des trois types d'hormones stéroïdes est en général parfaite.

En d'autres termes, au niveau du vagin il y a un antagonisme entre les oestrogènes d'une part, et la progestérone ou les androgènes, d'autre part.

Dès lors la mucification, observée à divers degrés et même chez les femelles correctement hypophysectomisées, n'a plus rien d'anormal. Elle peut être considérée comme une réaction banale de l'épithélium vaginal due à la stimulation excessive par des stéroïdes appartenant aux deux types cités.

Je reprends alors rapidement les résultats fournis par les ovaires dans les quatre séries d'expériences avec des doses quotidiennes de 150 U.I., injectées à des femelles normales ou hypophysectomisées au cours de traitements de courte et de longue durée.

Après avoir observé la formation précoce de méroxanthosomes chez les femelles normales (déjà après une seule injection lors de l'autopsie différée), on pouvait se demander si cette lutéinisation mixte d'un follicule en croissance était due uniquement à la stimulation simultanée par les gonadotropines endogènes hypophysaires se combinant à la gonadotropine choriale injectée, ou si la croissance folliculaire n'avait pas été accélérée et accentuée par une autre hormone folliculo-stimulante, comme on pouvait le supposer à la suite des résultats obtenus déjà dans d'autres séries sur femelles hypophysectomisées.

Si donc je retrouvais des méroxanthosomes chez des femelles hypophyso-privées après un traitement de courte durée — alors que même un reliquat hypophysaire, d'ailleurs jamais retrouvé, n'aurait pu assumer une sécrétion folliculo-stimulante suffisante à la croissance folliculaire — j'étais en mesure d'affirmer définitive-

ment la présence d'un facteur folliculo-stimulant hypophysaire gravidique contaminant l'hormone lutéinisante choriale des extraits d'urine de femme enceinte.

Ces méroxanthosomes ont été retrouvés à la sixième injection sur femelles hypophysectomisées!

Mieux encore. Si, dans la série à longue durée, et chez des femelles incomplètement hypophysectomisées, la présence de follicules hémorragiques — observée couramment chez les femelles normales recevant la même dose forte — paraît justifiée, l'apparition de ces formations pathologiques ne l'est plus du tout chez les femelles correctement opérées: à moins d'admettre à nouveau l'existence de ce facteur folliculo-stimulant étranger.

L'extrême sensibilité des Cobayes a donc permis de confirmer presque simultanément les constatations révolutionnaires de Simpson (1953) concernant la composition, c'est-à-dire la dualité des gonadotropines choriales et hypophysaires.

Les deux séries d'expériences sur femelles hypophysectomisées ont permis d'observer encore un autre fait singulier. Si les corps jaunes sont souvent « revigorés » et d'activité variable, au cours de la première semaine de traitement, ils sont toujours absents après trois semaines, tandis que les méroxanthosomes persistent. Ces derniers, contrairement aux corps jaunes, ne subissent pas l'action destructrice du facteur lutéinisant à longue échéance (déjà signalée par Greep chez les Rats), mais subissent au contraire la synergie des deux facteurs hormonaux contenus dans le produit injecté.

Enfin, les mesures d'index nucléaires ont été très fructueuses. Elles ont, en corrélation avec la soudanophilie ovarienne, permis de suivre l'évolution du tissu théco-interstitiel au cours des traitements (fig. 33).

Qu'il s'agisse de femelles normales ou de femelles hypophysectomisées, la chute consécutive aux premières injections est très rapide et continue jusqu'au moment de l'accoutumance, moment à partir duquel les index nucléaires remontent, pour atteindre, après trois semaines, des valeurs différentes, en fonction de l'accoutumance complète ou non.

Cytologiquement, il faut souligner la différence qui existe entre les tissus interstitiels non sécréteurs à la suite d'une simple hypophysectomie, ou à la suite de l'accoutumance aux hormones

injectées, plus exactement à l'hormone crinogène seulement. Dans le premier cas, on est frappé par l'aspect soudanophobe de l'ovaire (index nucléaire dépassant largement 40) alors que l'accoutumance

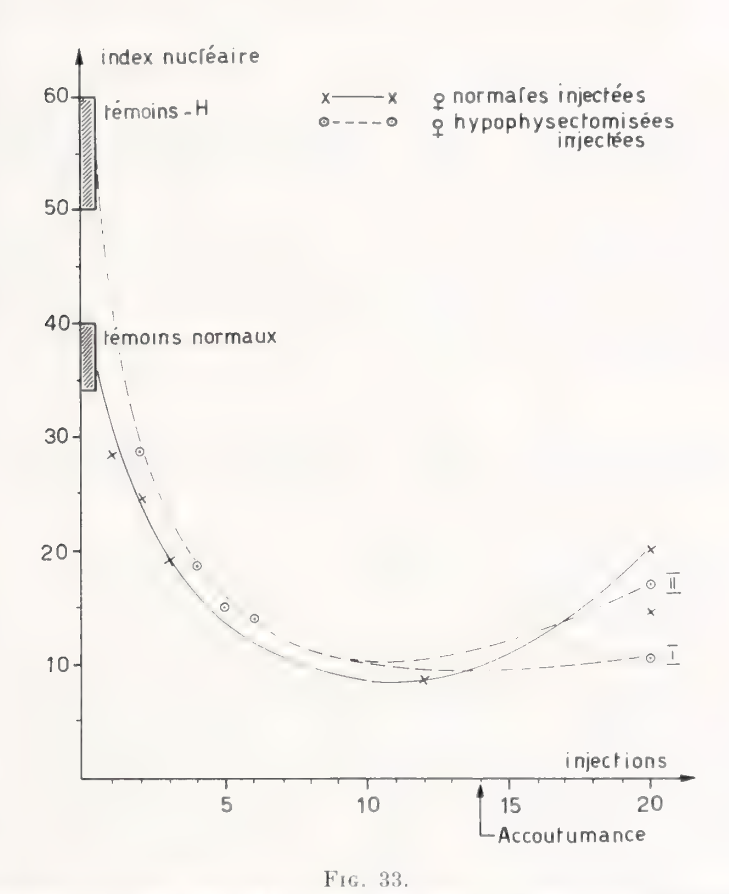


Fig. 33.

Femelles de Cobayes normales et hypophysectomisées recevant 150 U. I. par jour. Relations entre l'index nucléaire et le nombre d'injections démontrant l'influence du degré d'accoutumance.

totale entraîne une soudanophilie forte, généralisée (l'index nucléaire remonte au-dessus de 15). Si, en revanche, l'index nucléaire se situe entre 9 et 14, il peut s'agir d'une accoutumance faible, répartie sur tout l'ovaire, ou d'une accoutumance incomplète, partielle. Dans le premier cas la soudanophilie est diffuse, alors qu'elle est partielle, surtout périphérique, dans le second cas.

Quant à la masculinisation, sujet principal de ce travail, ce n'est pas seulement par son aspect final qu'il est possible de distinguer différents degrés. Le début du développement du clitoris, ainsi que le moment d'apparition des éminences blanches, sont également caractéristiques pour chaque série.

La virilisation commence tôt (6e - 7e jour) chez les femelles complètement hypophysectomisées, plus tard (8e - 9e jour) chez les femelles normales, et se fait avec beaucoup de difficultés à partir de la fin de la deuxième semaine chez les femelles possédant un reliquat hypophysaire.

De même l'hyperféminisation, qui se manifeste tardivement, est liée à certaines conditions expérimentales. Elle est très prononcée chez les femelles normales recevant 22 injections et chez les femelles incomplètement opérées.

C. TROISIÈME PARTIE: QUESTIONS SUBSIDIAIRES

1) Témoins: femelles de Cobayes castrées

Six femelles, choisies dans les limites d'âge et de poids des femelles hypophysectomisées et traitées, ont été castrées à divers moments de leur cycle. Je les ai sacrifiées après des laps de temps variant de deux à 14 semaines, afin de suivre l'involution progressive du tractus génital. Cette régression est rapide au niveau des cornes utérines, plus lente au niveau du vagin, qui reste toujours fermé (sauf dans le cas de kyste fonctionnel). Cette différence de comportement est vraisemblablement due au seuil de sensibilité plus bas du vagin.

Puisque ces femelles vont être comparées également à celles traitées après hypophysectomie, c'est surtout leur aspect après 4 et 6 semaines de castration qui doit être envisagé (cf. tableau XI).

2) Vérification du physex (effet oestrogénique)

Après avoir observé des stimulations utérines et vaginales chez des femelles hypophysectomisées, traitées par de fortes doses de Physex, j'ai voulu m'assurer que le Physex ne contenait pas

de substance à effet oestrogénique. C'est la raison pour laquelle des femelles castrées ont reçu une dose quotidienne de 150 U.I. pendant trois semaines.

TABLEAU XI

Involution du tractus génital en fonction de la durée de castration

N° de la femelle	Age des femelles	Durée de castration	Vagins	Cornes utérines
216	jeune	2 sem.	± di-oestre	petites, impubères
148	jeune	4 sem.	faible pro-oestre	± frangées
381, 214	adultes	6 sem.	très faible pro-oestre	rondes, glandes peu actives, pas de franges
P 65	adulte	11 sem.	di-oestre	petites, repos
P 50	adulte	14 sem.	di-oestre aplasié	petites, aplaties, repos complet
382	adulte à kyste (ovaire résiduel)	8 sem.	plein rut hyperkératinisé	hyperstimulaées pseudopluristratifiées glandes actives cinèses

Deux jeunes femelles (149, 150) ont été injectées quatre semaines après l'opération. Chez les trois femelles adultes (213, 383, 384), âgées de 5 mois, le repos intermédiaire a été au moins de 6 semaines, pour permettre l'élimination complète des hormones ovariennes encore en circulation.

En général, il n'y a pas de différence notable entre cette série et la série témoin. Les vagins et les cornes utérines sont en repos.

Une unique et forte stimulation des cornes utérines, constatée chez une des femelles (149), doit être mise en rapport avec l'hyperactivité des surrénales qui pèsent 113‰ au lieu de 60‰ à 75‰, cette glande pouvant aussi sécréter des stéroïdes agissant sur le tractus [1].

[1] Récemment (1959) K. PONSE et al. ont pu prouver que des femelles castrées depuis 2 ans se sont complètement virilisées et féminisées par suite d'un adénome intra-cortical de la surrénale à point de départ réticulaire.

Dès lors il est possible d'exclure la contamination du Physex par des substances à activité oestrogénique. Par conséquent, toute stimulation utérine ou vaginale reflète l'activité ovarienne principalement. Il ne faut, en revanche, pas perdre de vue une intervention éventuelle de la part des surrénales des animaux non hypophysectomisés.

3) Vérification de l'action des androgènes sur le tractus génital femelle

A la suite des traitements par de fortes doses de Physex, les cornes utérines et les vagins ont révélé une stimulation excessive: plissement et évolution glandulo-kystique de l'endomètre utérin, parallèlement à l'hypermucification sans stratification du vagin. Considérant l'état histologique de l'ovaire, il était clair que les hormones responsables provenaient de la gonade. Mais fallait-il attribuer cette stimulation uniquement aux hormones stéroïdes femelles, ou n'était-elle pas renforcée par la présence des androgènes?

Afin de vérifier ce point, des femelles castrées depuis au moins 6 semaines ont reçu des doses croissantes de Perandren (testostérone) pendant trois semaines (cf. tableau XII).

Tableau XII.

Rapport entre la dose et les effets d'androgènes administrés

N° de la femelle	Durée de castration	Injections: Dose quotidienne	Injections: Dose totale (nombre)	Vagin	Cornes utérines	Début de masculinisation
441	6 sem.	0,1 mg	2 mg (20)	di-oestre	aplasie	10e jour
444, 439	6 sem.	0,5 mg	10 mg (20)	di-oestre	aplasie	6e jour
460	9 sem.	2,0 mg	22 mg (11)	± mucifié	franges	5e jour
461	13 sem.	1,0 mg	25 mg (25)	franges muqueuses	glandes actives (kyste)	8e jour
458	10½ sem.	2,0 mg	40 mg (20)	pas stim.	métaplasie vaginale	5e jour

Les faibles doses (femelles 441, 444, 439) n'ont exercé pratiquement aucun effet. Il est en revanche très intéressant de constater une forte stimulation des cornes utérines, pouvant aller jusqu'à la formation de polypes et de métaplasie vaginale après administration de 2 mg de Perandren par jour.

Le vagin, apparemment moins sensible, répond par une tendance variable à former des franges muqueuses.

En ce qui concerne la masculinisation, elle est extrêmement prononcée et commence d'autant plus tôt que la dose quotidienne injectée est plus forte, n'ayant plus rien de physiologique.

Sans vouloir prétendre qu'il soit possible d'évaluer les « équivalents-Perandren » sécrétés par les ovaires au cours des expériences principales, il est intéressant de comparer le nombre d'injections, soit de Physex, soit de Perandren sur femelles castrées, qu'il a fallu pour que les premiers indices d'une virilisation se manifestent (cf. aussi Strong et Hill 1938, Hill et Strong 1940).

4) Conclusions

L'involution du tractus génital femelle après castration est progressive. L'état de di-oestre aplasié est atteint plus rapidement chez les animaux jeunes que chez les adultes.

On n'*observe aucune action oestrogénique du Physex* après administration de doses fortes, et dans les conditions standards, à des femelles de Cobayes castrées. Cornes utérines et vagins sont identiques aux témoins.

Si l'on injecte du Perandren à des doses allant de 0,1 mg à 2 mg par jour à des femelles castrées on observe nettement une stimulation du tractus génital en fonction de la dose administrée. Ainsi, on a la preuve que l'hypermucification vaginale et la stimulation des cornes utérines des femelles hypophysectomisées et recevant des gonadotropines ne sont pas nécessairement le signe d'une opération incomplète, mais reflètent bien l'action des androgènes (ovariens) au niveau du tractus génital.

D. QUATRIÈME PARTIE

Résumé et discussion

Depuis près de 30 ans l'école de GUYÉNOT a étudié la masculinisation de la femelle de Cobaye, en fonction de la lutéinisation de l'ovaire et sous l'action gonadotrope de l'urine de femme enceinte, entre autres. Reprenant ce sujet, et en s'adressant aux Rats hypophysectomisés, surrénalectomisés, normaux ou doublement opérés, Mlle PONSE avait en main un matériel de choix et parfaitement adapté à l'étude du rôle de l'ovaire et du mécanisme de la masculinisation.

Ses recherches ont prouvé que la surrénale n'intervient pas. L'hypophyse, loin d'être indispensable, exerce, au contraire, une action inhibitrice. En effet, au cours de traitements identiques, des Rats normaux ne se virilisent que le 14e ou le 16e jour, alors que des Rats hypophysectomisés réagissent déjà après 7 jours. De plus, l'ovaire peut, à lui seul, viriliser des femelles traitées par des hormones gonadotropes chez les femelles surrénalectomisées et hypophysectomisées.

Comparant l'action des deux gonadotropines, sérique et chorionique, de composition qualitative et quantitative différente, il a été possible d'infirmer les conclusions hâtives et erronées de certains chercheurs: lors d'injections de gonadotropines urinaires, l'ovaire ne contient pas de corps jaunes. Il sécrète des androgènes et des oestrogènes; lors d'injections de gonadotropines sériques en revanche, l'ovaire des femelles hypophysectomisées possède aussi des corps jaunes, des follicules III mûrs et des kystes lutéiniques. La gonade produit en conséquence de la progestérone et des oestrogènes en grandes quantités, en plus des stéroïdes masculinisants. Ces faits expliquent l'état gravidique des mamelons et des glandes mammaires des animaux hypophysectomisés traités par les hormones sériques, alors que ceux traités par des extraits d'urine de femme enceinte ne présentent pas d'alvéolisation. Puisque la virilisation se produit dans les deux cas, donc aussi en l'absence de corps jaunes, elle n'est pas due à la progestérone,

et c'est le tissu théco-interstitiel qui joue le rôle capital. Du reste l'image histologique des ovaires des femelles virilisées et privées à la fois de l'hypophyse et des surrénales démontre que le seul tissu présent est le tissu d'atrésie théco-interstitiel stimulé.

Lorsque j'ai entrepris le travail sur femelles de Cobayes, il ne s'agissait plus de comparer l'action des deux sortes de gonadotropines, mais de dégager les relations hormonales étroites qui existent entre la réponse ovarienne aux gonadotropines et la masculinisation des femelles ainsi traitées. Toute l'étude a donc été axée sur le tractus génital et mammaire; or, je ne peux la terminer sans avoir mentionné du tout les surrénales. Chez les Rats, la surrénale est mise nettement hors de cause en ce qui concerne la masculinisation. De toute façon un éventuel rôle androgène de cette glande pourrait être contrôlé grâce à un « cortex juvénile » histologiquement visible chez $^{1}/_{3}$ des femelles de certaines races génétiques, zone qui n'existe pas chez le Cobaye. Chez cet animal, les surrénales m'ont cependant souvent surprise par une zone éosinophile périmédullaire formée de petites cellules. Cette caractéristique est apparue surtout chez les femelles castrées et recevant des injections d'hormones androgènes. Ainsi que l'ont démontré d'autres expériences sur femelles de Cobayes surrénalectomisées, et recevant des androgènes dans les mêmes conditions que mes animaux d'expériences, il est bien clair que les surrénales ne sont pas nécessaires au mécanisme de la masculinisation. Mais il n'est pas exclu d'admettre une réaction secondaire déclenchée par les androgènes ovariens ou injectés, bien qu'on n'ait pas signalé d'action cortigène sélective des androgènes sur le cortex périmédullaire. Au contraire, il est bien établi que les hormones mâles font disparaître la zone X des Souris ou le cortex juvénile des Rats.

Sensibilité des animaux.

Au cours de mon travail j'ai été amenée à distinguer différentes sensibilités parmi les animaux d'expériences.

— Certaines femelles semblaient réfractaires aux traitements. Ceci a pu être mis en relation avec la saison à laquelle les animaux sont étudiés: les Cobayes ont mieux réagi en été qu'en hiver, et mieux en plein hiver qu'en automne au moment des changements alimentaires.

— Si une femelle hypophysectomisée répond mal aux stimulations, il faut penser éventuellement à un choc opératoire trop violent et dont elle ne se remettra vraisemblablement pas, ou alors à un reliquat hypophysaire qui augmente la dysfonction hormonale. Cette dernière possibilité sera élucidée au cours de l'autopsie.

— Les différences de sensibilité doivent également être mises en rapport avec l'âge et la provenance, c'est-à-dire la souche des Cobayes. Les femelles trop jeunes, ainsi que celles fournies par des élevages étrangers étaient souvent réfractaires aux injections d'hormones. En revanche, j'ai évité les albinos, en raison de leur hypersensibilité qui les rend trop peu résistants aux opérations.

Souvent la croissance ultérieure des clitoris dépend des réactions individuelles de l'animal à l'adaptation (ou non) aux conditions hormonales spéciales provoquées par l'administration chronique du facteur crinogène.

Masculinisation.

Bien que le clitoris ait toujours été dessiné au moment de l'autopsie et que les crochets aient été soigneusement mesurés, l'appréciation du degré de virilisation reste malgré tout assez subjective. Je me suis efforcée de trouver un mode d'évaluation qui tienne compte simultanément des trois éléments principaux compris dans la virilisation des femelles au niveau du clitoris:

— la dévagination d'un clitoris qui a augmenté de taille (degré de clivage balano-préputial);
— la formation des crochets à sa base;
— l'apparition des odontoïdes.

Le schéma (fig. 34), auquel je vais me référer dorénavant, peut paraître arbitraire, mais il a l'avantage de résumer clairement les faits.

a) *Les premiers signes* d'une modification clitoridienne dans le sens mâle dépendent évidemment de la sensibilité de l'animal au niveau des différents organes mis en jeu lors de la masculinisation. Ces indices apparaissent d'autant plus tardivement que la dose d'hormone gonadotrope injectée est faible. Ils dépendent

également de la présence ou de l'absence de l'hypophyse et, chez les femelles normales traitées, de l'âge de l'animal.

Si des femelles normales traitées par 10 U.I. par jour se masculinisent vers le 14e jour, celles recevant des doses plus fortes réagissent plus tôt — vers le 8e jour déjà, si les femelles sont adultes — vers le 10e jour seulement, si elles sont impubères. La virilisation des femelles hypophysectomisées débute deux à trois jours plus tôt (6e jour). En cas de reliquat hypophysaire, et malgré l'administration de fortes doses, il faut attendre jusqu'au 12e jour pour apercevoir les éminences blanches.

b) Mais c'est surtout le *degré de masculinisation* atteint après trois semaines de traitement qui doit être discuté:

— Aux doses faibles (10 U.I. ou 20 U.I. par jour), on se trouve très près d'une masculinisation peu caractéristique et variable.

— Les résultats, apparemment contradictoires, obtenus avec 20 U.I. par jour méritent une explication complémentaire. Si la masculinisation est généralement proportionnelle à la stimulation du tissu théco-interstitiel ovarien — donc proportionnelle à la baisse de l'index nucléaire traduisant l'hypertrophie de ce tissu — cet énoncé doit subir quelques restrictions: le développement du clitoris dépend tout naturellement du taux d'androgènes en circulation; taux qui, lui, dépend à son tour aussi bien de l'activité que du nombre des cellules interstitielles. Puisque cette activité sécrétrice de chaque cellule individuelle est presque égale dans les deux séries à 20 U.I. (mêmes index), les ovaires, de plus petite taille chez les femelles hypophysectomisées produisent au total une quantité plus faible d'hormone mâle, d'où masculinisation tardive et plus faible à la fin du traitement.

— Le seuil efficace semble se situer aux doses de 40 U.I. par jour. Ce n'est qu'à ces doses moyennes, ainsi qu'aux doses quotidiennes fortes (150 U.I.) qu'il est possible de distinguer une très nette différence entre la masculinisation des femelles normales et celle des femelles hypophysectomisées, plus prononcée chez ces dernières.

— La régression de la masculinisation après 4 à 5 semaines de traitement ne peut être comprise que si l'on tient compte de l'accoutumance. Aussi en sera-t-il question plus loin.

Tableau XIII *a). Récapitulation des expériences.*

Dose U.I./jour	Durée	FEMELLES NORMALES U.I./100 g	Ovaire	Vagin
10	3 sem.	1,4 à 2,3	Accoutumance partielle Quelques vieux corps jaunes Méroxanthosomes Faible croissance folliculaire LH disparaît, α libéré (+ FSH)	rut physiologique
	4 sem.	2,3	Accoutumance totale (Ovaire de petite taille) Trop de FSH	atypique
20	3 sem.	4,2	Accoutumance forte, corps jaunes Seuil physiol. de LH atteint, se combine avec α et FSH Etat pseudo-physiologique	normal
40	1 à 6 jours	—	—	—
	3 sem.	12,1	I. Jeunes: réact. acmogène + FH adultes: réact. auxogène II Accoutumance partielle Méroxanthosomes en formation	bloqué rut permanent
	5 sem.	13	I. Accoutumance partielle, corps jaunes II. Accoutumance totale, Méroxanthosomes	oestrogénique progestérone
150	courte	34	1 à 3 jours Hépatisation rapide Autopsie différée: méroxanthosomes Réaction en fonction du jour du cycle à la première injection (α + FSH + LH) 12 injections: hépatisation, FH Méroxanthosomes	di-oestre bloqué
	3 sem.	22/77 très variable	Accoutumance (i.n.) FH, « dentelle » (dose relative) *Mamelons* — *Cornes utérines* ± gros — oestre gros — frangées collostrum — polypeuses	 rut muqueux hypermucifié

Abréviations: exceptionnellement on désigne follicule hémorragique par FH, l'hormone follicul stimulante par FSH, l'hormone lutéinisante par LH.

TABLEAU XIII *b). Récapitulation des expériences.*

Dose U.I./jour	Durée	FEMELLES HYPOPHYSOPRIVES U.I./100 g	Ovaire	Vagin
10	3 sem.	2,2	Accoutumance, hépatisation Corps jaunes persistants	di-oestre
	4 sem.	2,3	Accoutumance totale Croissance folliculaire FSH gravidique se manifeste	rut
20	3 sem.	4,1	Accoutumance partielle Hépatisation Très faible croissance folliculaire FSH gravidique soupçonné	di-oestre
40	1 à 6 jours	14	Rapidement hépatisé Corps jaunes revigorés	di-oestre muqueux à 240 U.I.
	3 sem.	10,4	I. Accoutumance partielle, hépatisé Rares méroxanthosomes ou Croissance folliculaire moyenne II. Quelques méroxanthosomes Pars tuberalis rehausse l'act. FSH gravidique	di-oestre hypermucifié
	5 sem.	—	—	—
50	courte	37	2 à 6 jours 2 injections: tissu interstitiel crinogène, 4 injections: c.j. /méroxanthosomes + + + ou + + + + 6 injections: méroxanthosomes Nette manifestation de FSH gravidique	di-oestre
	3 sem.	30/40	Type I. Accoutumance partielle Méroxanthosomes, FH Croissance folliculaire LH persiste jusqu'à la fin Action FSH forte Type II. Accoutumance totale (ovaire de petite taille) Reliquat: cf. les normales	mucifié pro-oestre

Abréviations: exceptionnellement on désigne: follicule hémorragique par FH, l'hormone folliculo-stimulante par FSH, L'hormone lutéinisante par LH.

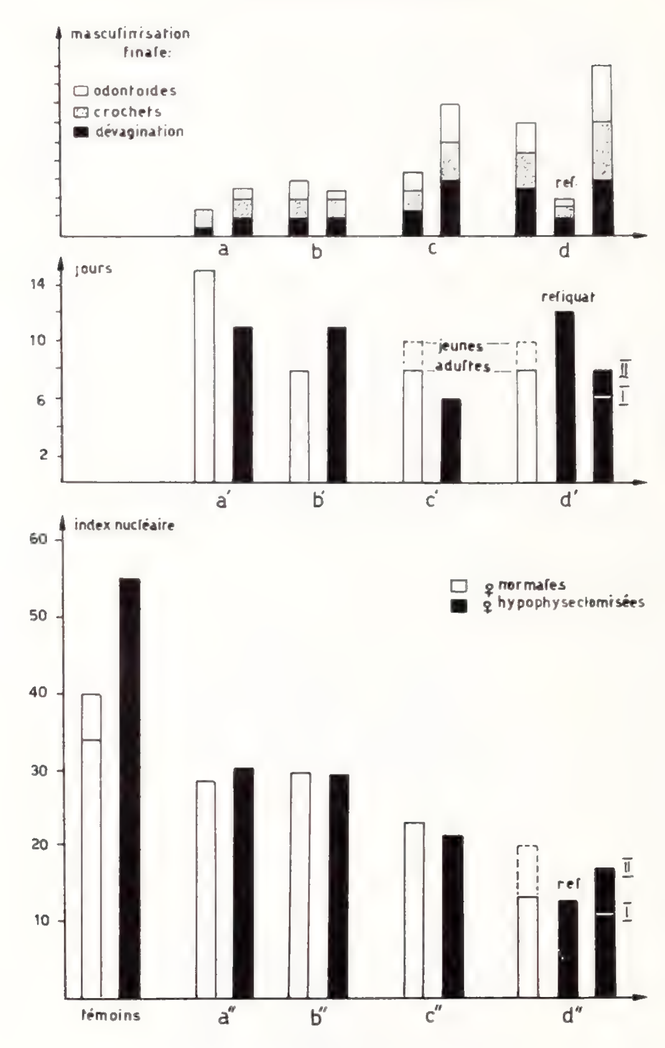


Fig. 34.

Récapitulation des expériences faites sur femelles de Cobayes normales et hypophysectomisées, traitées ou non par des gonadotropines choriales pendant trois semaines.

Lecture horizontale:

a) 10 U.I. par jour } = dose faible
b) 20 U.I. par jour }
c) 40 U.I. par jour = dose moyenne
d) 150 U.I. par jour = dose forte

Lecture verticale:

) degré final de la masculinisation à l'autopsie.
') apparition des premiers signes de la masculinisation.
") index nucléaire à l'autopsie.

Ovaire.

Au niveau de l'ovaire, les modifications dues aux traitements par des hormones gonadotropes sont profondes, mais variables. Il semble que le déséquilibre hormonal qui en résulte soit plus grave chez les femelles impubères que chez les femelles adultes, dont les gonades seraient habituées à répondre aux fluctuations quantitatives et qualitatives des gonadotropines. Pourtant toutes les femelles sont très vite affectées par les traitements chroniques aux doses extra-physiologiques utilisées. C'est du moins les conclusions qu'il faut tirer des séries à traitements de courte durée.

Dans un tableau récapitulatif (cf. tableau XIII), j'ai essayé de réunir les principales observations histologiques caractérisant chaque série, et je me propose de commenter ces différents éléments dans les quelques paragraphes suivants:

a) *les types de réaction:* il est intéressant de noter que dans plusieurs séries, comprenant des femelles normales et des femelles hypophysectomisées, on distingue plus ou moins nettement deux types de réactions ovariennes [1]. Ils diffèrent avant tout par leur état d'accoutumance (donc par leur index nucléaire) qui retentit également sur l'aspect macroscopique externe des femelles, et ils peuvent être schématisés de la façon suivante:

— Les ovaires sont petits et l'index nucléaire élevé. L'accoutumance est assez forte, plus ou moins complète, allant généralement de pair avec une masculinisation faible. On observe parfois une hyperféminisation aberrante assez prononcée.

— Le deuxième type est tout à l'opposé du premier: les ovaires sont grands, leurs index nucléaires bas et l'accoutumance faible, partielle. La masculinisation forte est rarement accompagnée d'hyperféminisation.

Le meilleur exemple de cette possibilité de réagir selon deux modes différents — malgré des conditions d'expérience identiques — se trouve réalisé dans la série des femelles hypophysectomisées recevant 150 U.I. par jour.

[1] Cette constatation a été relevée et interprétée par K. Ponse (1956) lors de la discussion des résultats généraux du groupe de Cobayes virilisés par 150 U.I. par jour, et signalée également dans sa note préliminaire de Marseille (1958).

b) *état crinogène de l'ovaire:* le but de mon travail était d'obtenir un état ovarien d'hépatisation pure — à l'exclusion de tout autre élément gonadique — chez des femelles fortement virilisées. Un tel état ne peut être créé que chez des femelles hypophysectomisées, et encore à condition d'atteindre un juste équilibre entre la dose quotidienne injectée et la durée du traitement.

Ce fait se dégage des résultats suivants, observés chez des femelles hypophysectomisées et traitées pendant trois semaines:

après 20 injections de 10 U.I. par jour, le stade de l'hépatisation pure est déjà dépassé et les ovaires présentent l'aspect caractéristique de l'accoutumance complète, sans parler de la persistance des corps jaunes.

— si l'on double la dose quotidienne, l'accoutumance n'est encore que partielle, mais les variations individuelles sont très prononcées et la masculinisation trop faible.

— lors de l'administration de 40 U.I. par jour, les variations individuelles s'estompent, mais un certain facteur folliculo-stimulant, dont il sera question ultérieurement, fait son apparition, nettement en fin d'expérience.

— ce facteur supplémentaire se fait sentir à plus forte raison aux doses de 150 U.I. par jour et rend les ovaires complètement hétérogènes.

c) *l'index nucléaire:* en ce qui concerne l'index nucléaire, les résultats obtenus au cours des traitements de courte durée, tant chez les femelles normales que chez les femelles hypophysectomisées, ont été suffisamment discutés dans l'exposé du travail. On peut dire de façon générale que l'abaissement de l'index nucléaire est extrêmement rapide et progressif jusqu'au moment de l'accoutumance, moment à partir duquel les valeurs de l'index remontent.

En fin d'expérience (fig. 34), l'index nucléaire est inversement proportionnel à la dose quotidienne des gonadotropines administrées, et dépend de la durée du traitement.

Bien qu'en apparence le début de la masculinisation soit fonction de l'état initial de l'ovaire, et bien que la mesure de l'index nucléaire à l'autopsie ne permette pas de déduire a posteriori l'évolution de l'ovaire au cours des trois dernières semaines, la valeur finale de cet index peut être mise directement en rapport

avec le degré de la masculinisation atteint dans les diverses séries d'expériences.

d) *l'accoutumance:* il faut également souligner l'importance de l'accoutumance des ovaires au facteur crinogène injecté; cette réaction secondaire dépend de la dose quotidienne administrée. En augmentant la dose des gonadotropines, l'accoutumance se fait plus lentement. Elle apparaît alors plus tardivement et, par conséquent, est incomplète après trois semaines de traitement. Il va sans dire que cette réaction immunologique est soumise à des variations individuelles très larges (réactions ovariennes du type I ou du type II, citées plus haut).

— Si le fait de différer la première injection après l'opération influence, quoique très faiblement, les valeurs des index nucléaires lors des traitements de courte durée, il n'empêche pas la réaction immunologique de s'établir au cours des traitements de trois semaines.

— La neutralisation de l'hormone crinogène injectée est très rapide: elle est complète aux doses de 10 U.I. par jour, aussi bien chez les femelles normales que chez les femelles hypophysectomisées. Dans ces deux séries elle semble avoir lieu au moment du début de la masculinisation.

— Dès lors, on comprend plus facilement la régression de la masculinisation des femelles traitées pendant 4 et 5 semaines, car le tissu interstitiel ovarien, dont l'état d'accoutumance ne disparaît pas, n'est plus à même de sécréter des hormones androgènes. Cette expérience supplémentaire a donc fourni une nouvelle preuve indéniable des relations étroites existant entre le développement du clitoris et le tissu théco-interstitiel, seul tissu ovarien capable, après stimulation appropriée, de sécréter des hormones sexuelles mâles, donc responsable de la virilisation paradoxale de ces femelles.

e) *l'hormone folliculo-stimulante gravidique:* en se basant sur les observations faites chez les femelles hypophysectomisées, et grâce à l'accoutumance des ovaires aux hormones crinogènes exclusivement, il a été possible de reconnaître peu à peu que les extraits gonadotropes d'urines de femme enceinte ne contiennent pas uniquement de l'hormone lutéinisante.

— Si l'accoutumance est totale aux doses faibles de 10 U.I. et de 20 U.I. par jour, ces doses administrées (dose totale: 200 U.I., respectivement 400 U.I.) ne sont pas assez importantes pour que le facteur folliculo-stimulant se manifeste déjà après trois semaines. Pourtant on constate, après 29 injections de 10 U.I. (dose totale: 290 U.I.), une certaine croissance folliculaire, entraînant un rut: deux phénomènes qui ne sont pas dus à des reliquats hypophysaires. Ces trois séries d'expériences prouvent bien que le choix de la dose totale administrée seul ne suffit pas pour faire apparaître la présence du facteur folliculo-stimulant, involontairement injecté. Il faut encore réaliser des conditions bien définies.

— L'action folliculo-stimulante est très faible, mais nette, chez les femelles recevant 800 U.I. (en 20 fois 40 U.I.). Cette action, dont on ne soupçonnait pas l'existence au moment où ce travail avait été entrepris, complique singulièrement les résultats par sa synergie avec le facteur lutéinisant non neutralisé. Les ovaires deviennent alors gros, et ils contiennent des formations prélutéales (méroxanthosomes) qui, dans cette série, n'exercent encore aucune influence sur le clitoris et les mamelons; mais leur activité fonctionnelle se trahit au niveau du vagin (hypermucification) et des cornes utérines (glandulo-kystiques). Il y a déséquilibre oestrogène-progestérone, ou excès d'hormone folliculo-stimulante par rapport à l'hormone lutéinisante. On note que, par hasard, le seuil de la masculinisation se situe précisément à la dose quotidienne de 40 U.I.

— En revanche, lors d'injections de 150 U.I. par jour, il n'est plus possible, ni de mettre en doute, ni de négliger la présence de cette deuxième hormone gonadotrope, contaminant les extraits urinaires. On observe une croissance folliculaire prononcée, des méroxanthosomes et même des follicules hémorragiques, ainsi que les transformations caractéristiques des cornes utérines et du vagin. Nos observations sur femelles de Cobayes hypophysectomisées confirment donc entièrement la découverte de Simpson et ses collaborateurs sur les Rats.

Chez les femelles normales, l'ensemble du jeu hormonal est beaucoup plus complexe, car tout au long du traitement il faut tenir compte de l'hypophyse propre de l'animal.

Sachant qu'au cours du cycle sexuel une hypophyse de femelle répond par la sécrétion d'hormone lutéinisante aux taux physiologiques d'oestrogènes et à nouveau par la sécrétion d'hormone folliculo-stimulante lors de la dégénérescence du corps jaune (diminution de la progestérone), sachant également que des injections d'hormone gonadotrope mettent momentanément cette hypophyse au repos, mais qu'elle sécrète de l'hormone auxogène en excès à la suite d'une stimulation redoublée par les fortes quantités de stéroïdes libérés lors du traitement chronique par les gonadotropines, on peut se demander de quelle façon l'hypophyse femelle réagit aux androgènes, soit injectés, soit ovariens. L'état histologique des ovaires laisse supposer que ce n'est pas par la sécrétion d'hormone crinogène.

Il a été démontré qu'au moment de l'accoutumance l'hypophyse sécrétait principalement de l'hormone folliculo-stimulante auxogène. De plus, il ne faut pas oublier l'existence du facteur hypophysotrope α, qui provoque une réaction acmogène (folliculo-stimulante). Il est donc évident que, dans ces conditions, une faible quantité supplémentaire d'hormone folliculo-stimulante, d'origine exogène, ne peut réellement être identifiée.

On est pourtant frappé, chez les femelles normales traitées, par la forte féminisation aberrante, qui semble être fonction de la dose des gonadotropines injectées et surtout de la présence de gros follicules kystiques sécrétant vraisemblablement des oestrogènes et de la progestérone.

C'est ainsi que, par exemple, les follicules hémorragiques apparaissent déjà aux doses de 40 U.I. par jour, et que les méroxanthosomes sont nombreux. Les ruts peuvent devenir permanents.

Aux doses quotidiennes de 150 U.I., les variations individuelles sont énormes chez certaines femelles et sont à mettre en rapport avec la dose relative administrée. Dans certains cas, l'effet puissant, additif, des différents facteurs folliculo-stimulants est du type auxogène le plus pur (croissance folliculaire en « dentelle »).

Les traces du facteur folliculo-stimulant, contenu dans le produit utilisé, proviennent vraisemblablement de l'hypophyse de la femme enceinte, puisque, expérimentalement, on a pu apporter

les preuves d'une production d'hormone exclusivement lutéinisante par le placenta.

f) *les corps jaunes:* il faut encore rapporter quelques observations concernant plus spécialement les corps jaunes. On sait, actuellement, qu'ils persistent encore longtemps après l'hypophysectomie, même chez les Cobayes, et qu'ils sont présents dans les ovaires des femelles normales traitées par des hormones gonadotropes. Or, il ressort des différentes séries d'expériences qu'on rencontre ces éléments ovariens aussi chez les femelles hypophysoprives:

— Les expériences de courte durée ont révélé que les corps jaunes sont momentanément « revigorés » au début des traitements d'où l'on tire cette première conclusion: les faibles doses d'hormones lutéinisantes maintiennent l'activité des cors jaunes.
  Ceci est tellement vrai que les ovaires des femelles hypophysectomisées traitées pendant trois semaines par des doses quotidiennes de 10 U.I. possèdent également des corps jaunes.
— Mais déjà à 20 U.I., comme à 40 U.I., ces éléments font défaut chez les femelles opérées, alors que chez les femelles normales on les trouve encore. On en tire alors une deuxième conclusion: de façon générale, des doses fortes, chroniques d'hormones gonadotropes, administrées à des femelles opérées ou non, font disparaître les corps jaunes des ovaires, fait bien établi par Greep sur le Rat.

Il faut cependant utiliser des doses bien plus fortes chez les femelles normales pour aboutir aux mêmes effets que chez les femelles privées de leur hypophyse. Il semble que l'hormone crinogène injectée soit, physiologiquement, en partie contrebalancée par les gonadotropines endogènes.

CONCLUSIONS

Dans le travail qui vient d'être exposé, il a donc été possible de démontrer très nettement de quelle façon la virilisation des femelles de Cobayes est étroitement liée aux réactions de l'ovaire aux différentes doses de gonadotropines chorioniques injectées.

Pourtant, si le rôle du tissu interstitiel est incontesté, il y aurait eu encore bien d'autres problèmes à résoudre, comme par exemple: Quels sont, du point de vue chimique, les androgènes engagés dans la masculinisation des femelles? Il faudrait alors mettre au point des dosages micro-chimiques directement sur des coupes d'ovaires, et si possible pour chaque catégorie de tissu séparément. Mais de telles expériences ne rentraient plus dans le cadre du sujet qui m'avait été confié [1].

Les chimistes, de leur côté, dosant les métabolites urinaires, obtenaient des valeurs quantitatives révélant périphériquement l'évolution au cours du traitement des ovaires histologiquement hors d'atteinte.

De mon côté, je ne possédais que l'état final de cette évolution ovarienne, et les coupes histologiques — servant également de contrôle aux chimistes — constituaient pour moi la seule base d'une étude essentiellement déductive. Dans ce travail purement biologique, il fallait chercher à prouver la validité des différentes hypothèses avancées, sans jamais quitter le domaine de l'observation histologique.

Enfin, pour que ce travail prenne sa vraie valeur, il faudrait le replacer dans son cadre initial et considérer dans leur ensemble tous les résultats, tant chimiques, que biologiques, obtenus par le groupe des chercheurs financé par le Fonds national suisse de la Recherche scientifique et placé sous la direction des professeurs K. Ponse (Genève) et M. F. Jayle (Paris).

AUTEURS CITÉS

Bärtschi, W. et K. Ponse. 1934. *La greffe d'ovaires chez le Cobaye mâle.* Bull. biol. France-Belgique 68: 1-58.

Billenstein, D. Ch. and Th. F. Leveque. 1955. *The reorganisation of the neuro-hypophysial stalk following hypophysectomy in the Rat.* Endocr. 56: 704-717.

[1] P.-S. Mon travail ayant été achevé en 1957 et rédigé en 1959, je n'ai eu connaissance que dernièrement du travail de M. de la Luz Suarez Soto et J. Legault-Démare (1960). Les auteurs ont démontré que seul le Δ^4 androstène-3,17 dione était produit par les ovaires de Rats incubés en présence de PMS. L'augmentation des Δ^4-3 cétostéroïdes est proportionnelle au logarithme de la dose.

Binder, E. 1949. *L'accoutumance aux hormones thyréotrope et gonadotrope.* Rev. Suisse Zool. 56: 97-241. Thèse, Genève.

Bradbury, J. T. 1941. *Permanent after-effects following masculinisation of the infantile female Rat.* Endocr. 28: 101-106.

— and F. J. Gaensbauer. 1939. *Masculinisation of the female Rat by gonadotropic extracts.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 41: 128-131.

Bruzzone, S. and A. Lipschutz. 1953. *Testosterone-oestradiol antagonism studied on the clitoris of the Guinea-Pig.* Acta endocr. 12: 28-34.

Butt, W. R., A. C. Crooke, J. D. Ingram and B. P. Round. 1957. *Follicle stimulating hormone in the urine of pregnant women.* Endocr. 16: 107-113.

Charollais, E. 1955. *Contribution à l'étude de la réaction de Zimmerman en vue du micro-dosage de 17-cétostéroïdes neutres dans l'urine.* Bull. Soc. Chim. Biol. 37:299-305.

— 1957. *Les métabolites des androgènes (17-cétostéroïdes) au cours du cycle normal et après hypophysectomie du Cobaye femelle.* Rev. Suisse Zool. 64: 288-293.

— 1960. Thèse, Genève.

— O. Libert, M. Perret et D. Rosenbusch-Weihs. 1957. *Contribution à l'étude de la surrénalectomie du Cobaye.* ib. 64:773-787.

— K. Ponse et M. F. Jayle. 1957. *Méthodes de dosages des 17-cétostéroïdes dans l'urine de Cobayes, application au cycle oestral.* Ann. Endocr. 18: 109-119.

Claesson, L. E. Diczfalusy, N. A. Hillarp and B. Hoegberg. 1948. *The formation mechanism of oestrogenic hormones.* III. *Lipids of pregnant Rabbit ovary and their changes at gonadotropic stimulation.* Acta Physiol. Scand. 16: 183-200.

Deanesley, R. 1938. *The androgenic activity of ovarian grafts in castrated male Rats.* Proc. Roy. Soc. London B. 126: 122-135.

Desclin, L. 1938. *A propos de l'activité androgène de l'ovaire.* C.R.S.B. 128: 557-560.

Drescher, J. und H. H. Stange. 1955. *Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung der isolierten follikelstimulierenden Verbindungen aus chorion- und hypophysären Gonadotropinen auf Ovarien hypophysektomierter Ratten.* Acta endocr. 19: 289:296.

Dovaz. R., O. Libert et K. Ponse. 1951. *Variations de l'élimination urinaire des stéroïdes chez le Cobaye femelle après masculinisation.* ib. 8: 371-379.

Falk, E. A. and G. N. Papanicolaou. 1936. *Effect of pregnancy urine extracts upon normal and transplanted gonads and upon the external genitalia in the Guinea-Pig.* Anat. Rec. 64 suppl. 16.

FETZER, S. 1952. *Beeinflussung der Plasmalogenverteilung in der Nebennierenrinde des hypophysektomierten Meerschweinchens.* Naturwissensch. 39: 114.

FRAHM, H. und W. G. SCHNEIDER. 1957. *Papierelektrophoretische Aufspaltung gonadotroper Substanzen.* Acta endocr. 24: 106-112.

FURTH, J. and J. S. BUTTERWORTH. 1936. *Neoplastic diseases produced in Mice by general irradiation with X-Rays. II. Ovarian tumors and associated lesions.* Am. J. Cancer. 28: 66-95.

— and O. B. FURTH. 1936. *Neoplastic diseases produced in Mice by general irradiation with X-Rays. I. Incidences and types of neoplasms.* ib. 28: 54-65.

GAARENSTROOM, J. A. and S. E. DE JONGH. 1946. *A contribution to the knowledge of the influence of gonadotropine and sex hormones on the gonads of the Rats.* Elsevier Pub. N.Y.

GANS, E. 1959. *The F.S.H. content of serum of intact and of gonadectomized Rats and of Rats with sex-hormone.* Acta endocr. 32: 362-373.

GANS, E. 1959. *The I.C.S.H. content of serum of intact and of gonadectomized Rats and of Rats with sex-hormone.* ib. 32:373-383.

GENTHER-SCHMIDT, J. 1937. *The effects of hypophyseal implants from normal mature Guinea-Pigs on the sex organs of immature Guinea-Pigs.* Endocr. 21: 469-475.

— 1939. *Changes in the genital tracts of Guinea-Pigs associated with cystic and " interstitial gland " ovaries of long duration.* ib. 24:69-81.

GOMEZ, E. T. 1942. *Mammary gland growth in hypophysectomized ovariectomized Guinea-Pigs.* ib. 31. 613-618.

GREENE, R. R. and M. W. BURRIL. 1939. *Androgenic function of A.P.L. stimulated ovaries in immature Rats.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 42: 761-764.

GREEP, R. O. and J. A. JONES. 1950. *Steroid control of pituitary function.* Recent Progr. Horm. Res. V.: 197-261.

GRIGOUROFF, G. 1941. *Sur le processus de la mucification du vagin du Cobaye.* C.R.S.B. 135: 641.

GUYÉNOT, E. *Expériences de laboratoires non publiées.*

— 1946. *Les deux actions gonadotropes de l'U.F.E. I. Variation indépendante des seuils acmogène et crinogène.* Rev. Suisse Zool. 53: 1-210.

— et J. DUSZINSKA-WIETRZYKOWSKA. 1935. *Stérilité et virilisme chez des femelles de Cobayes issues d'un croisement interspécifique.* ib. 42: 341-388.

— et E. HELD. 1941. *Action de l'urine de femmes enceintes sur femelles de Cobayes hypophysectomisées.* ib. 48: 377-412.

— E. HELD et K. PONSE. 1937. *Hypophysectomie (Cobayes, Rats) et hormones gonadotropes.* Schweiz. Med. Wochens. Basel: 1218.

Guyénot, E., E. Held et A. Moszkowska. 1937. *Accoutumances aux hormones préhypophysaires et sérums protecteurs.* Rev. Suisse Zool. 44: 151-200.

— E. Held et K. Ponse. 1939. *Action des hormones gonadotropes urinaires sur femelles de Cobayes et Rats hypophysectomisées.* Helv. Med. acta. 4.

— et I. Naville-Trolliet. 1936. *Masculinisation provoquée chez des femelles de Cobayes.* Rev. Suisse Zool. 43: 415-454.

K. Ponse, A. Fehr et A. Moszkowska. 1932. *Action des extraits préhypophysaires alcalins sur la femelle impubère du Cobaye.* C.R.S.B. 110: 19-21.

— K. Ponse et I. Trolliet. 1933. *Action masculinisante de l'extrait d'urine de femme enceinte sur les femelles de Cobayes.* Assoc. Franç. Av. Sc.: 307.

— K. Ponse et I. Trolliet. 1934. *Action masculinisante de l'urine de femme enceinte.* C.R. Acad. Sc. 198: 1830.

— K. Ponse et J. Wietrzykowska. 1932. *Lutéinisation de l'ovaire et masculinisation chez le Cobaye.* ib. 194: 1051-1053.

Hamburger, Chr. and K. Petersen. 1946. *On the effect of gonadotraphines in normal infantile Guinea-Pigs.* Acta Path. 23: sep. 1.

Hernandez, Th. 1943. *Hormonal ambisexuallity of ovarian grafts in female Rats.* Am. J. Anat. 73: 127-151.

Hill, R. T. 1937. *Ovaries secrete male hormones. II. Temperature control of the male hormone output by grafted ovaries.* Endocr. 21: 633-636.

— and W. U. Gardner. 1936. *Maintenance of accessory organs by ovarian grafts in castrated male Mice.* Anat. Rec. 26 suppl.: 64.

— and W. W. Stalker. 1942. *Oestrogens, blood-sugar, liver glycogen in normal and hypophysectomized Guinea-Pigs.* Endocr. 31: 89-92.

— and M. T. Strong. 1938. *Ovaries secrete male hormone. IV. Effect of ovarian androgens on accessory gland size in the Mouse.* ib. 22: 663-666.

— and M. T. Strong. 1940. *Ovaries secrete male hormone. V. A comparaison of some synthetic androgens with naturally occuring ovarian androgens in Mice.* ib. 27: 79-82.

Hodler, D. 1937. *Surrénales et masculinisation.* Thèse, Genève.

Ingram, D. L. and A. M. Mandel. 1958. *The hypophysial control of the X-Ray sterilized ovary.* J. of Endocr. 17: 1-12.

— and A. M. Mandel. 1958. *The secretion of oestrogen after hypophysectomy.* ib. 17: 13-16.

Jacobsohn, D. 1954. *Regeneration of hypophysial portal vessels and grafts of anterior pituitary glands in Rabbits.* Acta Endocr. 17: 187-197.

Jaffe, H. and G. N. Papanicolaou. 1927. *A case of hermaphroditismus verus lateralis in Guinea-Pigs.* Anat. Rec. 26: 205-220.

De Jongh, S. E. und R. Korteweg. 1935. *Der Einfluss von Ovarimplantationen auf die Genitalien der kastrierten mannlichen Maus.* Acta Brev. Neerl. 5: 126-127.

— und J. D. Mulder. 1932. *Über die Maskulinisierung der äusseren Genitalien von weiblichen Meerschweinchen nach Injektionen von mannlichem und weiblichem Harn.* Endokrinologie 11: 161-165.

Junck, E. C., W. O. Maddock, C. C. Heller and W. O. Nelson. 1949. *Anti-hormone formation complicating pituitary gonadotropin therapy in infertile men.* J. Clin. Endocr. 9: 355-367.

Kitay, J. I. and M. D. Altschule. 1954. *Effects of pineal extracts administration on ovary weight in Rats.* Endocr. 55: 782-784.

Libert, O., R. Dovaz et M. Perret. 1957. *Les métabolites de la progestérone (G.B.S.) dans le cycle normal et après hypophysectomie chez le Cobaye.* Rev. Suisse Zool. 64: 281-287.

Lipschutz, A. 1916. (cité dans Guyénot, Naville-Trolliet 1936).

— 1926. *On a peculiar type of intersexuallity in the Guinea-Pig.* Brit. J. Exp. Biol. 4: 227-244.

— 1927. *On some fundamental laws of ovarian dynamics.* Biol. Rev. 2: 263-280.

— 1932. *Wiedervermannlichung eines kastrierten mannlichen Meerschweinchens nach Eierstockverpflanzung.* Virchow's Arch. 285: 35-45.

Lipschutz, A. 1933. *Masculinisation par résection partielle de l'ovaire chez le Cobaye.* C.R.S.B. 112: 1272-1273.

— 1937. Nature 140. (cité dans Morato-Manaro 1941).

— 1950. *Steroid hormones and tumors.* Ed. Williams and Wilkins, Baltimore.

Luz Suarez Soto, M. de la et J. Legault-Demare. 1960. *Etude de l'activité biologique* in vitro *des hormones gonadotropes I. Production de stéroïdes par l'ovaire de rats sous l'action de l'hormone sérique.* Acta endocr. 33: 444-450.

Lyon, R. A., M. E. Simpson and H. M. Evans. 1953. *Qualitative changes in urinary gonadotrophins in human pregnancy during the period of rapid increase in hormone titer.* Endocr. 53: 674-686.

Maddock, W. O. 1949. *Antihormone formation complicating pituitary gonadotrophin therapy in fertile men.* J. of Clin. Endocr. 9: 213-233.

— J. Tokuyama, R. B. Leach and W. R. Roy. 1953. *Effect of hog pituitary gonadotropin therapy and subsequent antihormone formation on ovarian function.* ib. 13: 834.

MANDEL, A. M. 1957. *Factors influencing ovarian sensibility to gonadotrophin.* ib. 15: 448-457.

MARX, L. and I. T. BRADBURY. 1940. *Correlation of ovarian histology and intersexuality of the genital apparatus with special reference to A.P.L. treated infantile Rats.* Anat. Rev. 78: 70-103.

MOORE, 1921. (cité dans GUYÉNOT, NAVILLE-TROLLIET, 1936).

MORATO-MANARO, J. und A. ALBRIEUX. 1938. *Vermännlichung von jugendlichen Meerschweinchen durch das Prolan.* Rev. Biol. 9: 79.

— et A. ALBRIEUX. 1941. *Masculinisation de Cobayes femelles infantiles par le prolan.* Ann. Endocr. 1: 93-101.

MORICARD, R. 1947. *De la formation du premier globule polaire après hypophysectomie incomplète. — Fonction de la Pars Tuberalis — effet des gonadotropes.* Expansion Scient.: 119.

MOSZKOWSKA, A. 1947. *Différence d'activité entre épiphyses de quelques mammifères et l'épiphyse de Poule.* Ann. Endocr. 8: 139.

— 1952 et 1951. *Effects of pineal gland extracts on young adult female Guinea-Pigs.* Excerpta Med. 6: 638. C.R.S.B. 145: 845-847.

PAESI, F. J. A. 1947. *Testosterone and luteinisation.* Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch. 50: 564-570.

PAPANICOLAOU, G. N. and E. A. FALK. 1934. *Action of pregnancy urine extracts on the external genitalia of the Guinea-Pig.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 31: 750-753.

PARKES, A. S. 1950. *Androgenic activity of the ovary.* Rec. Progr. Horm. Res. 5: 101-114.

PFEIFFER, C. A. and C. W. HOOKER. 1942. *Experiments on the source of ovarian androgens in the Mouse.* Anat. Rec. 83: 543-571.

PHELPS, D., J. C. BURCH and E. T. ELLISON. 1938. *Effect of long term injections of testosterone upon Guinea-Pig endometrium.* Endocr. 23: 458-462.

PONSE, K. 1951. Chicago. Endocrine Society.

— 1951-1952. *Travail en Amérique, Chicago.* Communications personnelles.

— 1954*a*. *Masculinisation paradoxale de Rats par des extraits gonadotropes gravidiques en fonction de l'hypophyse et des surrénales.* Bull. Acad. Suisse Sc. Med. 10: 1-10.

— 1954*b*. *Gonadotropines chorioniques et fonction androgène de l'ovaire. Fonction lutéale.* Masson, Paris.

— 1954*c*. *Gonadotropines chorioniques et fonction androgène de l'ovaire du Rat.* Congr. Internat. Gynécol. Obstétr., Genève.

— 1955. *La fonction androgène de l'ovaire chez l'animal.* 3e Réunion des Endocr. de langue française.

Ponse, K. et un groupe d'élèves. 1958. *Virilisation du Cobaye par la gonadotropine en présence et en l'absence de l'hypophyse ou des surrénales.* Ann. Endocr. 19: 809-819.

— E. Charollais, R. Dovaz, P. Jeanneret, O. Libert et D. Weihs. 1956. *Virilisation de Cobayes femelles par l'Antuitrine S et dosages des métabolites urinaires des androgènes et des lutéoïdes.* Rev. Suisse Zool. 62: 214-235.

— O. Libert et R. Dovaz. 1955. *Exploration du corps jaune et du placenta du Cobaye par la détermination d'une fraction de glycuro-conjugués urinaires.* Ann. Endocr. 16: 122-130.

— D. Weihs, O. Libert et R. Dovaz. 1954. *Trophoblastomes ovariens et leur activité endocrine chez le Cobaye.* Acta Endocr. 17: 355-365.

Rosenbusch-Weihs, D. et K. Ponse. 1957. *Actions rapides et lointaines de l'hypophysectomie chez le Cobaye.* Rev. Suisse Zool. 64: 270-280.

Schmidt, K. 1947. *Über den Einfluss von Prolan auf den Geschlechtsapparat des infantiles weiblichen Meerschweinchens.* Dissertation.

Schweizer, M. and M. E. Long. 1950. *Effect of intra-ocular grafts of anterior pituitary on thyroïd gland of hypophysectomized Guinea-Pigs.* Endocr. 47: 455.

Simmonnet, H. et L. Thieblot. 1951. *Recherches expérimentales sur la physiologie de la glande pinéale.* Acta Endocr. 7: 306-320.

— L. Thieblot et T. Melik. 1951. *Influence de l'épiphyse sur l'ovaire de jeunes Rates.* Ann. Endocr. 12: 202-205.

— L. Thieblot, T. Melik et V. Segal. 1954. *Nouvelles preuves de l'endocrinie épiphysaire.* Acta Endocr. 17: 402-413.

Steinach, E. und H. Kun. 1931. *Luteingewebe und männliche Geschlechtscharaktere.* Pflüger's Arch. 227: 267-278.

Strong, M. T. and R. T. Hill. 1948. *Ovaries secrete male hormone. III. Androgenic hormones of Mouse ovaries not identical with testosterone-propionate (Oreton).* Anat. Rec. 70 suppl.: 76.

Tonutti, E. 1951. *Regressive Transformationen der Nebennierenrinde des hypophysektomierten Meerschweinchens.* Endokrinologie, 28: 1-15.

Trolliet, I. 1936. Thèse, Genève.

Westman, A. and D. Jacobsohn. 1944. *The production of masculinizing hormone in ovaries.* Acta Obst. Gynecol. Scand. 24: 105.

IMPRIMÉ EN SUISSE


AMNH LIBRARY
100163678